

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

PAR
JONATHAN POMMAINVILLE

EFFETS DE LA PRIVATION VISUELLE SUR L'EXPRESSION DES
TRANSPORTEURS VÉSICULAIRES DU GLUTAMATE ET DU GABA
DANS LES CORTEX SENSORIELS CHEZ LA SOURIS ÉNUCLÉE
À LA NAISSANCE ET ANOPHTALME CONGÉNITALE

JANVIER 2014

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

*“Every man can, if he so desires, become
the sculptor of his own brain”
— Santiago Ramón y Cajal*

REMERCIEMENTS

C'est en composant ces lignes que je me rends compte que mon séjour, en tant qu'étudiant à la maîtrise en biologie moléculaire et cellulaire, est bientôt terminé. Il n'y a pas si longtemps, je venais d'être accepté dans le laboratoire de neuroanatomie fonctionnelle des professeurs Denis Boire, Ph. D., et Gilles Bronchti, Ph. D., pour débiter un tout nouveau projet sur la modification biochimique des composantes synaptiques dans les cortex sensoriels primaires suite à la perte de la vision. J'ai eu la chance et le plaisir de côtoyer plusieurs personnes au laboratoire et je tiens à les remercier pour m'avoir épaulé tout au long de ma maîtrise.

Tout d'abord, Joshua Cloutier-Beaupré qui a été mon *partner in crime* et coéquipier pour les multiples expérimentations sur nos modèles animaux. Grâce à lui, les immunobuvardages de type Western n'ont plus de secrets pour moi. Merci d'avoir accepté de travailler avec moi sur un projet aussi intéressant que complexe et d'avoir pris le temps de répondre à mes millions de questions. Nos multiples discussions lors de tes fameux soupers à la maison seront à jamais gravées dans ma mémoire.

Ensuite, Ian Massé qui est devenu un très bon ami dès le premier instant où nous nous sommes rencontrés au laboratoire. Ton excellent sens de l'humour et ta grande écoute m'ont permis d'apprécier chaque moment passé en ta compagnie. Merci de m'avoir écouté pendant les moments difficiles et supporté tout au long de mon séjour au laboratoire. Je t'en serai toujours reconnaissant.

Aussi, Marie-Eve Laramée, Ph. D., qui m'a aidé à trouver une méthode de travail efficace pour réussir à la maîtrise. Merci pour ton support moral et ta patience infinie. Trop souvent j'ai cru que ma personnalité m'empêcherait d'avoir une belle relation avec toi et tu m'as prouvé que j'avais tort. Merci d'avoir partagé tes connaissances scientifiques et sociales. Elles ont fait de moi une meilleure personne.

J'aimerais également remercier les multiples stagiaires qui ont été de passage au laboratoire, notamment Victor Ythier et Tracey Johanne Calixte avec qui j'ai eu la chance de travailler. Votre aide m'a été précieuse et je vous en serai toujours reconnaissant. Merci beaucoup.

Je tiens à remercier le professeur Gilles Bronchti, Ph. D., pour son aide financière tout au long de mon séjour dans le laboratoire de neuroanatomie fonctionnelle. Sans votre support, notre étude aurait été beaucoup plus difficile. Merci beaucoup.

Finalement, mais non le moindre, je remercie mon directeur de maîtrise Denis Boire, Ph. D., sans qui cette aventure n'aurait jamais eu lieu. Il m'est difficile d'exprimer par des mots tout le respect que j'ai pour vous. Vous m'avez donné une chance à la maîtrise sachant bien que je n'étais pas le meilleur étudiant du baccalauréat en biologie médicale. Vous m'avez supporté et encouragé au travers des multiples complications rencontrées tout au long de notre étude. Malgré les difficultés, vous êtes resté attentif et dévoué. Merci du fond du cœur. Cette maîtrise est la preuve que nous avons réussi!

RÉSUMÉ

Lors du développement cortical normal, l'expérience sensorielle façonne le cortex cérébral et module la maturation et le raffinement des multiples connexions synaptiques impliquées dans le traitement des informations sensorielles. La perte de la vision altère le développement cortical normal et induit des modifications dans le cortex cérébral des individus aveugles. Notamment, il a été démontré chez des sujets ayant perdu la vision en très bas âge que le cortex visuel primaire est activé lorsqu'ils effectuent certaines tâches auditives et tactiles. De plus, il a été observé que les individus aveugles possèdent de meilleures habiletés discriminatives lors de certaines tâches auditives et tactiles comparativement aux individus voyants. Il semble donc que le cortex visuel primaire des individus aveugles précoces soit pris en charge par d'autres modalités sensorielles. De ce fait, la perte de la vision entraînerait alors des modifications fonctionnelles, anatomiques et biochimiques dans le cortex visuel primaire des individus aveugles grâce à l'expérience sensorielle hétéromodale afférente. De plus, il a été proposé que la perte de la vision constitue un enrichissement sensoriel pour les autres modalités sensorielles qui seraient davantage sollicitées. Il serait alors possible que les cortex auditif et somatosensoriel primaires subissent également des modifications physiologiques et biochimiques suite à la perte de la vision. Il y a des études qui démontrent que les modifications biochimiques causées par la perte de la vision touchent principalement les composantes postsynaptiques dans les cortex sensoriels primaires. Cependant, il est possible que les composantes présynaptiques soient également modifiées suite à la perte de la vision, donc nous voulons vérifier si les composantes excitatrices et inhibitrices présynaptiques dans les cortex sensoriels primaires sont modifiées chez des individus aveugles. Pour ce faire, nous utiliserons l'immunobuvardage de type Western pour mesurer l'expression des transporteurs vésiculaires du glutamate et du GABA, des indicateurs de l'activité présynaptique, à partir du surnageant post-nucléaire (PNS) des différents cortex sensoriels primaires de deux modèles animaux ayant subi une désafférentation visuelle.

Aucune modulation significative de l'expression des transporteurs vésiculaires du glutamate (VGluT1;VGluT2) et du GABA (VGAT) n'a été observé dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires des souris énucléées et anophtalmes congénitales comparativement aux souris voyantes contrôles. Ces résultats indiquent que, selon nos conditions expérimentales, une privation visuelle irréversible ne modifierait pas la force excitatrice ou inhibitrice présynaptique chez les sujets aveugles. Aussi, nos résultats suggèrent que la privation visuelle ne serait pas un enrichissement sensoriel pour les autres sens. Ces conclusions ne permettent pas d'expliquer les changements observés dans les différents cortex sensoriels primaires lors de la perte de la vision, mais offrent plutôt quelques éclaircissements sur la modulation de l'expression de certains éléments synaptiques qui sont impliqués dans le traitement de l'information sensorielle au niveau cortical.

Mots-clés : vision, perte de la vision, activité sensorielle, enrichissement sensoriel, souris, immunobuvardage de type Western, transporteurs vésiculaires, VGluT, VGAT, plasticité intermodale.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iii
RÉSUMÉ.....	v
LISTE DES FIGURES	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	xi
LISTE DES SYMBOLES.....	i
 CHAPITRE I	
INTRODUCTION.....	1
1.1 La vision	1
1.2 La perte de la vision.....	2
1.2.1 Modifications fonctionnelles chez les humains	2
1.2.2 Modifications fonctionnelles chez les animaux.....	7
1.2.3 Modifications anatomiques.....	7
1.2.3.1 Modifications anatomiques corticales	8
1.2.3.2 Modifications anatomiques de la connectivité corticale.....	8
1.2.3.3 Modifications anatomiques synaptiques.....	14
1.2.4 Modifications biochimiques	14
1.3 Les transporteurs vésiculaires de neurotransmetteurs	19
1.3.1 Transporteurs vésiculaires glutamatergiques.....	21
1.3.2 Transporteur vésiculaire GABAergique	24
1.4 Enrichissement sensoriel	24
1.5 Modèle animaux	29
1.6 Objectifs de recherche et hypothèses.....	30
 CHAPITRE II	
MATÉRIEL ET MÉTHODE.....	33
2.1 L'environnement expérimental.....	33
2.2 Énucléation bilatérale	34
2.3 Extraction des protéines corticales	35
2.4 Homogénéisation des protéines	40

2.5	Dosage des protéines	40
2.6	Électrophorèse	42
2.7	Immunobuvardage de type Western (Western Blot)	44
2.8	Test densitométrique et ImageJ	46
CHAPITRE III		
RÉSULTATS.....		50
CHAPITRE IV		
DISCUSSION		54
4.1	Considérations générales	54
4.2	Modifications des connexions synaptiques dans le cortex visuel primaire	59
4.2.1	VGluT2	59
4.2.2	VGluT1	63
4.2.3	VGAT	65
4.3	Modifications des connexions synaptiques dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires	70
4.3.1	VGluT2	70
4.3.2	VGluT1	72
4.3.3	VGAT	73
4.4	Considérations méthodologiques.....	74
CONCLUSION.....		76
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		77

LISTE DES FIGURES

Figure		Page
1.1	Patrons d'activation du cortex visuel primaire des sujets aveugles précoces par des stimuli auditifs et tactiles.....	3
1.2	Modulation de l'activité corticale par TMS de hautes fréquences	5
1.3	Activation du cortex visuel primaire par des stimuli auditifs	10
1.4	Modulation de la force excitatrice postsynaptique dans V1	16
1.5	Modulation de la force excitatrice postsynaptique dans S1	17
1.6	Modulation de la force excitatrice présynaptique dans V1	18
1.7	Effets des transporteurs vésiculaires sur la vésicule synaptique.....	20
1.8	Distribution des transporteurs vésiculaires du glutamate chez le rat.....	23
1.9	Exemple d'un enrichissement environnemental	26
1.10	Modulation de la force excitatrice présynaptique thalamocorticale	27
1.11	Modulation de la force excitatrice présynaptique corticocorticale	28
2.1	Matrice de coupe en acrylique	35
2.2	Localisation et extraction des échantillons de tissus du cortex frontal chez la souris	37
2.3	Localisation et extraction des échantillons de tissus du cortex somatosensoriel primaire chez la souris	38
2.4	Localisation et extraction des échantillons de tissus des cortex visuel et auditif primaires chez la souris	39
2.5	Courbe standard de BSA utilisée pour le calcul de la concentration des protéines corticales.....	42
2.6	Détermination de la zone de détection linéaire dynamique	45
2.7	Exemple d'une image optimisée d'une membrane de PVDF	47
2.8	Sélection des bandes de protéines VGluT2 sur la membrane de PVDF	48

2.9	Analyse de la densité de pixels par échantillon de protéines corticales	49
3.1	Expression de VGluT2 dans les cortex sensoriels primaires des souris énucléées et anophtalmes	51
3.2	Expression de VGluT1 dans les cortex sensoriels primaires des souris énucléées et anophtalmes	52
3.3	Expression de VGAT dans les cortex sensoriels primaires des souris énucléées et anophtalmes	53
4.1	Expression des VGluT2 dans les différents cortex sensoriels primaires en utilisant les souris adultes énucléées et anophtalmes comme modèle de souris contrôle	56
4.2	Modulation de la force inhibitrice présynaptique corticale	69

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

AM	Noyau médial antérieur du thalamus
AMPA	Acide 2-amino-3-(5-méthyl-3-oxo-1,2-oxazol-4-yl) propanoïque
A1	Cortex auditif primaire
CGLd	Corps genouillé latéral dorsal
CI	Collicules inférieurs
Fr	Cortex frontal
GABA	Acide γ -aminobutyrique
LD	Noyau latéral dorsal du thalamus
LP	Noyau latéral postérieur du thalamus
M1	Cortex moteur primaire
M2	Cortex moteur secondaire
NMDA	Acide N-Méthyl-D-aspartique
PNS	Surnageant post-nucléaire
PPSE	Potentiel postsynaptique excitateur
PPSI	Potentiel postsynaptique inhibiteur
S1	Cortex somatosensoriel primaire
S1BF	Champ de tonneaux du cortex somatosensoriel primaire
VGAT	Transporteurs vésiculaires du GABA
VGluT	Transporteurs vésiculaires du glutamate
V1	Cortex visuel primaire

LISTE DES SYMBOLES

$\Delta\Psi$	Gradient électrochimique membranaire
ΔpH	Gradient de protons
%	Pourcentage
$^{\circ}\text{C}$	Degré Celsius

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 La vision

Chez l'humain, la vision joue un rôle de premier plan pour recueillir les informations spatio-temporelles de l'environnement. Environ, le tiers du cortex cérébral serait impliqué de près ou de loin dans l'intégration de stimuli visuels (Nieuwenhuys et al. 2007).

Chez les mammifères, l'expérience sensorielle est nécessaire pour le développement normal des aires sensorielles corticales ainsi que pour la maturation et le raffinement de leurs connexions synaptiques (Wiesel et Hubel 1963; Shatz 1990; Katz et Shatz 1996; Crair et al. 1998; Katz et Crowley 2002; Sur et Rubenstein 2005; Cang et al. 2005; Espinosa et Stryker 2012). Lors du développement, l'établissement des circuits neuronaux est déterminé génétiquement en fonction de l'expression d'une variété de molécules de guidage axonal (Goodman et Shatz 1993; Tessier-Lavigne et Goodman 1996). Cependant, le raffinement et la maturation des nouvelles connexions synaptiques sensorielles sont principalement régis par les nombreux changements locaux de l'activité électrique et métabolique neuronale, qui sont eux-mêmes modifiés par l'expérience sensorielle (Riddle et al., 1993; Zheng and Purves, 1995).

Lorsqu'il y a la perte de la vision chez un individu en bas âge les niveaux d'activité neuronale sont modifiés ce qui altère le développement normal des aires visuelles corticales (Shatz et Stryker 1978). La perte de la vision entraîne une diminution importante de l'activité visuelle afférente, et conséquemment, des modifications physiologiques et biochimiques importantes dans les connexions synaptiques du cortex visuel de l'individu aveugle.

1.2 La perte de la vision

La perte de la vision peut survenir dans plusieurs types de conditions pathologiques comme le glaucome, la dégénérescence maculaire, le diabète, une tumeur au cerveau, l'anophtalmie congénitale ou suite à des traumatismes crâniens. Une étude à l'échelle mondiale révèle qu'il y avait environ 733 millions d'individus touchés par une déficience visuelle importante (acuité visuelle inférieure à 6/12) en 2010 et augmenterait à 930 millions d'ici 2020, engendrant des coûts totaux relatifs aux soins de la vision qui avoisineraient les 2800 milliards de dollars américains (Gordois et al. 2012). Considérant l'incidence importante des troubles visuels, il n'est pas étonnant qu'il y ait de nombreuses études qui portent sur les conséquences fonctionnelles, anatomiques et biochimiques de la perte de la vision sur les différents cortex sensoriels primaires.

1.2.1 Modifications fonctionnelles chez les humains

Plusieurs modifications des voies visuelles ont été observées chez des individus ayant perdu la vision en très bas âge, comme une augmentation du métabolisme et du débit sanguin dans le cortex visuel primaire comparativement à des individus voyants ou ayant perdu la vision à l'âge adulte (Wanet-Defalque et al. 1988; Veraart et al. 1990). De plus, certaines études montrent une réduction de la taille (Kitajima et al. 1997; Jiang et al. 2009) et du volume (Pan et al. 2007; Ptito et al. 2008), mais aussi une augmentation de l'épaisseur du cortex visuel primaire chez des sujets aveugles comparativement à des sujets contrôles voyants (Jiang et al. 2009).

Également, des études ont démontré que le cortex visuel primaire est activé lorsqu'un sujet aveugle précoce effectue des tâches auditives (Weeks et al. 2000; Roder et al. 2002; Gougoux et al. 2005; Renier et al. 2010; Renier et al. 2013) et tactiles (Kujala et al. 1992; Sadato et al. 1996; Buchel et al. 1998; Renier et al. 2010; Renier et al. 2013) (Figure 1.1). Pour expliquer ce phénomène, des études suggèrent que la diminution d'activité visuelle afférente dans le cortex cérébral des aveugles précoces fait intervenir les aires corticales qui sont normalement dédiées aux fonctions visuelles

pour bonifier certaines habiletés discriminatives auditives et tactiles (Renier et al. 2010; Renier et al. 2013).

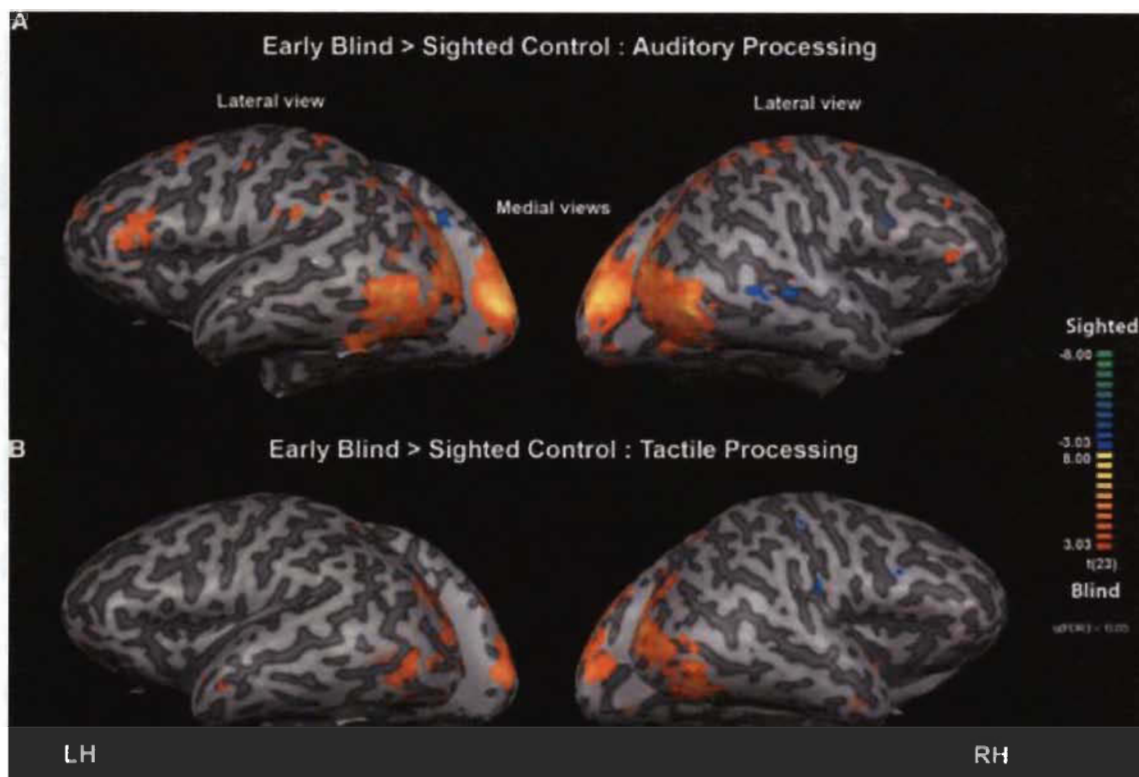


Figure 1.1 **Patrons d'activation du cortex visuel primaire des sujets aveugles précoces par des stimuli auditifs et tactiles.**

Résultats des résonances magnétiques fonctionnelles qui démontrent une activation marquée du cortex visuel primaire par des stimuli auditifs (A) et tactiles (B) chez des individus aveugles précoces comparativement à des individus voyants (Renier et al. 2013).

Il a été démontré que les individus atteints de cécité précoce possèdent une plus grande habileté à discriminer certains stimuli auditifs comme le déplacement d'une source sonore en mouvement (Poirier et al. 2006; Saenz et al. 2008), la localisation du son (Kujala et al. 1992; Leclerc et al. 2000; Gougoux et al. 2005; Collignon et al. 2009), la variation des timbres sonores (Kujala et al. 1997; Gougoux et al. 2004; Hamilton et al. 2004; Kujala et al. 2005) et le traitement du langage (Burton et al. 2002; Amedi et al. 2003; Burton et al. 2003; Burton et McLaren 2006).

D'autres études ont démontré que les individus atteints de cécité précoce possèdent une plus grande habileté à discriminer des stimuli tactiles par rapport aux individus voyants (Goldreich et Kanics 2003; Goldreich et Kanics 2006; Alary et al. 2009), mais aussi une meilleure perception tactile d'objets et de patrons tridimensionnels (3D) (Heller et al. 1996a; Heller et al. 1996b; Amedi et al. 2001; Cattaneo et al. 2008), une plus grande mémoire tactile (Bonino et al. 2008) et une habileté supérieure à lire le Braille (Cohen et al. 1997; Hamilton et Pascual-Leone 1998; Kupers et al. 2007; Liu et al. 2007). De plus, chez des sujets aveugles précoces, on observe une diminution de leur seuil d'activation tactile par rapport à celui des sujets voyants (Sterr et al. 1998) ainsi qu'une plus grande résolution spatiale tactile (Van Boven et al. 2000).

La relation entre l'activation du cortex visuel primaire lors de tâches non visuelles et les habiletés supérieures de discrimination sensorielle des individus aveugles précoces a été démontrée en inactivant le cortex visuel à l'aide de stimulations magnétiques transcrâniennes de hautes fréquences (TMS) lors de la lecture de symboles de Braille. Ces travaux démontrent que les sujets aveugles précoces perdent leur habileté à discriminer les symboles de Braille comparativement aux sujets voyants (Figure 1.2) (Cohen et al. 1997; Sadato et al. 2002; Pascual-Leone et al. 2005). Ces résultats montrent que le cortex visuel primaire d'un individu aveugle précoce participe, avec le cortex somatosensoriel, dans l'intégration de certaines fonctions tactiles. Le cortex visuel semble donc prendre en charge des fonctions somatosensorielles et recevoir des afférences sensorielles des autres modalités intactes chez les humains aveugles précoces (Bavelier et Neville 2002).

Certaines études proposent que le recrutement du cortex visuel primaire puisse être influencé, non seulement par la perte de la vision, mais aussi par l'expérience, le comportement et la difficulté de la tâche entreprise par l'individu. En effet, il a été suggéré que les performances supérieures des sujets aveugles dans la discrimination tactile seraient causées par un apprentissage sensoriel au lieu d'une plus grande sensibilité tactile (Hollins 1989; Grant et al. 2000). Par exemple, une étude a montré que la performance des sujets voyants pour la discrimination de points similaires aux

symboles de Braille est similaire à celle des sujets aveugles après seulement trois ou quatre sessions de pratique (Grant et al. 2000).

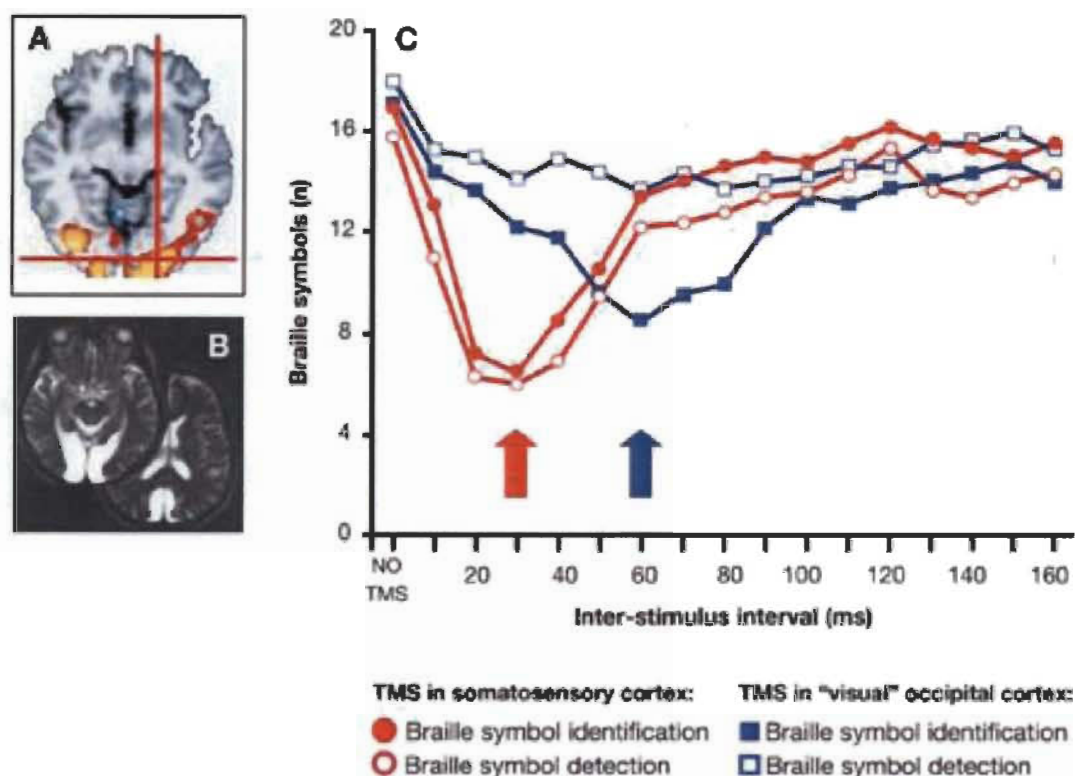


Figure 1.2 Modulation de l'activité corticale par TMS de hautes fréquences.
 A) Patron d'activation du cortex visuel primaire d'un individu aveugle précoce lors de la lecture du Braille. B) Résonance magnétique en phase T2 du lobe occipital d'un individu aveugle congénital présentant une alexie au Braille suite à une ischémie occipitale bilatérale. C) Résultats obtenus des sujets aveugles précoces sur la détection et l'identification de plusieurs symboles de Braille suite à l'inhibition des fonctions de leur cortex somatosensoriel primaire (en rouge) et leur cortex visuel primaire (en bleu) par des stimulations magnétiques transcrâniennes de hautes fréquences. On remarque la diminution des habiletés discriminatives des sujets aveugles pour l'identification des symboles de Braille lorsqu'ils subissent des stimulations magnétiques de hautes fréquences sur le cortex visuel primaire (Pascual-Leone et al. 2005).

Cependant, l'apprentissage ne parviendrait pas à expliquer les performances supérieures de sujets voyants aux yeux bandés lors de la discrimination du Braille. En effet, des études démontrent que le cortex visuel primaire des sujets voyants aux yeux

bandés était activé lors de tâches de discriminations tactiles et que cette activation était particulièrement importante après le cinquième jour d'expérimentation (Pascual-Leone et Hamilton 2001; Kauffman et al. 2002). Les études suggèrent que les performances supérieures des sujets voyants aux yeux bandés dépendraient de l'activation de leur cortex visuel primaire suite à des modifications de la connectivité corticale (Pascual-Leone et Hamilton 2001) et, que bander les yeux des sujets voyants entraînerait probablement le recrutement rapide du cortex visuel primaire lors de la discrimination de stimuli tactiles (Kauffman et al. 2002).

Il a été suggéré que la perte de la vision pouvait entraîner des modifications de la connectivité du cortex visuel primaire par plusieurs mécanismes, notamment par la mise en place de nouvelles connexions corticocorticales, aussi par un renforcement de connexions corticocorticales existantes ou bien un démasquage de connexions corticocorticales silencieuses dans le cortex visuel primaire des sujets aveugles précoces, permettant ainsi l'activation intermodale de celui-ci et des performances supérieures de discrimination sensorielle (Bavelier et Neville 2002; Pascual-Leone et al. 2005). Cependant, le délai de cinq jours nécessaire au cortex visuel primaire d'un sujet voyant aux yeux bandés pour modifier sa connectivité et mieux performer lors de tâches tactiles suggère que la perte de la vision induit des changements biochimiques rapides plutôt que des réorganisations anatomiques lentes des connexions corticales visuelles, considérant l'inactivation complète du cortex visuel primaire lors d'une tâche de discrimination tactile chez les sujets voyants aux yeux bandés après environs 20 heures de vision normale (Kauffman et al. 2002). Ces observations ont incité plusieurs études à utiliser des modèles animaux aveugles pour vérifier la nature des modifications anatomiques et biochimiques dans la connectivité du cortex visuel primaire.

1.2.2 Modifications fonctionnelles chez les animaux

Des modèles animaux de cécité précoce ou congénitale sont utilisés pour l'étude des effets de la perte complète d'activité visuelle sur les structures sous-corticales et corticales du cerveau. La privation visuelle entraîne des modifications importantes du cortex cérébral de ces modèles animaux, notamment la prise en charge du cortex visuel primaire par les modalités sensorielles intactes (Yaka et al. 1999; Izraeli et al. 2002; Kahn et Krubitzer 2002; Piché et al. 2004; Piché et al. 2007) et la présence d'afférences non visuelles au cortex visuel primaire en provenance d'une variété de structures sous-corticales et corticales associées aux modalités sensorielles intactes (Izraeli et al. 2002; Karlen et al. 2006).

Par exemple, des études ont mis en évidence une activation auditive (Morrell 1972; Yaka et al. 2000; Bronchti et al. 2002; Izraeli et al. 2002; Chabot et al. 2007; Larsen et al. 2009) et tactile (Toldi et al. 1996; Kahn et Krubitzer 2002) du cortex visuel primaire de modèles animaux de cécité précoce telle qu'observée chez les humains. De plus, des études comportementales ont démontré une meilleure performance des furets (King et Parsons 1999) et des chats (Rauschecker et Kniepert 1994) aveugles lors de certaines tâches de discrimination auditive comparativement à des contrôles voyants. Également, d'autres études comportementales ont mis en évidence une meilleure performance des rats énucléés à la naissance lors d'une tâche qui requiert une plus importante utilisation de leurs vibrisses comparativement à des contrôles voyants (Toldi et al. 1994). Ces études montrent qu'il existerait des similarités entre les interactions intermodales humaines et animales dans le cortex visuel primaire suite à une privation visuelle.

1.2.3 Modifications anatomiques

Les modifications fonctionnelles observées chez les sujets aveugles précoces suggèrent que la privation visuelle entraîne des modifications anatomiques dans le cortex cérébral, notamment dans les cortex sensoriels primaires, la connectivité corticale et les composantes synaptiques.

1.2.3.1 Modifications anatomiques corticales

Au niveau des cortex sensoriels primaires, il a été démontré que la privation visuelle entraîne une réduction de la taille du cortex visuel primaire chez les primates (Hubel et Wiesel 1977; Rakic 1988; Dehay et al. 1989), les chats (Price et al. 1994), les opossums (Krubitzer 2007; Karlen et Krubitzer 2009), les rats-taupes (Cooper et al. 1993; Bronchti et al. 2002), les souris (Kaiserman-Abramof 1979; Kaiserman-Abramof et al. 1980; Majdan et Shatz 2006; Chabot et al. 2007) et les hamsters (Trevelyan et Thompson 1995; Trevelyan et al. 2007; Desgent et al. 2010) aveugles précoces.

La privation visuelle entraînerait aussi des modifications anatomiques dans les autres cortex sensoriels primaires. En effet, une hypertrophie des aires auditives a été observée chez des souris juvéniles et adultes isolées à l'obscurité pour une période d'environ trois mois (Gyllensten et al. 1965). D'autres études ont également montré que la taille du champ de tonneaux des souris (Bronchti et al. 1992; Rauschecker et al. 1992) et le cortex somatosensoriel primaire des souris et des hamsters (Majdan et Shatz 2006; Desgent et al. 2010) énucléés à la naissance est plus grande que celle des contrôles voyants.

Conséquemment, la diminution de la taille des cortex visuel primaire et l'augmentation de la taille des cortex auditif et somatosensoriel primaires observées par les études suggèrent que la connectivité du cortex visuel primaire et celle des autres modalités sensorielles puissent être modifiées suite à la privation visuelle.

1.2.3.2 Modifications anatomiques de la connectivité corticale

Tout d'abord, il faut savoir qu'il existe plusieurs types de connexions dans le cortex cérébral, comme les connexions glutamatergiques thalamocorticales qui transportent l'activité excitatrice entre les structures sous-corticales et le cortex cérébral, les connexions glutamatergiques corticocorticales qui transportent l'activité excitatrice entre les différentes aires du cortex cérébral et les connexions GABAergiques

intracorticales qui modulent l'activité excitatrice qui circule dans le cortex cérébral (Bear et al. 2002; Purves 2007).

Au niveau des connexions glutamatergiques thalamocorticales, on devrait s'attendre à ce que leur densité soit diminuée dans le cortex visuel primaire étant donné la baisse des niveaux d'activité visuelle afférente lors de la privation visuelle. Or, des études ont démontré que la densité des connexions thalamocorticales n'est pas significativement diminuée entre le thalamus visuel, le corps genouillé latéral dorsal (CGLd), et le cortex visuel primaire de modèles animaux aveugles précoces (Karlen et al. 2006; Charbonneau et al. 2012). Donc, il est probable que la densité de ces connexions thalamocorticales visuelles soit maintenue par le transport d'activité intermodale vers le cortex visuel primaire.

Une étude faite dans notre laboratoire concorde avec cette hypothèse puisqu'une expression importante de la protéine c-fos a été observée dans le cortex visuel primaire des souris ZRDCT anophtalmes suite à des stimuli auditifs (Chabot et al. 2007). Puisque la protéine c-fos est exprimée principalement dans les terminaisons des connexions thalamocorticales (Amir et Stewart 1999), les résultats montrent que les connexions thalamocorticales visuelles participent à l'activation intermodale du cortex visuel primaire des souris ZRDCT anophtalmes congénitales. De plus, l'étude révèle qu'il n'y a aucune expression significative de la protéine c-fos chez les souris C57Bl/6 énucléées bilatéralement à la naissance et C57Bl/6 voyantes (Figure 1.3) (Chabot et al. 2007) ce qui laisse croire que la privation visuelle entraîne des modifications différentes selon le modèle de privation sensorielle.

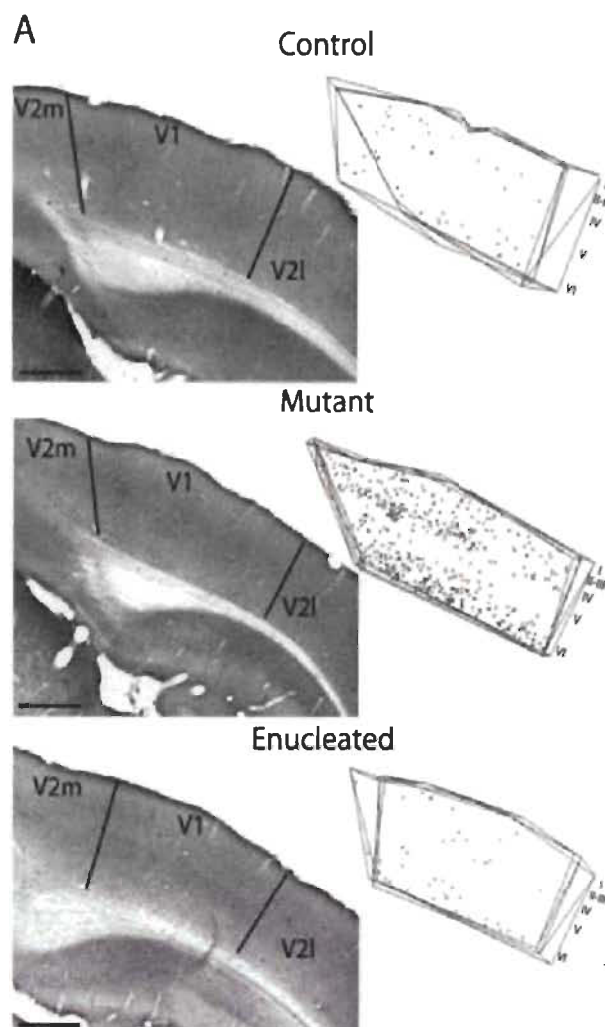


Figure 1.3 Activation du cortex visuel primaire par des stimuli auditifs. Représentation graphique de l'expression de la protéine c-fos dans les neurones du cortex visuel primaire suite à des stimuli auditifs chez les souris C57Bl/6 contrôles, ZRDCT anophtalmes et C57Bl/6 énucléées. (Gauche) Coupe coronale du cortex visuel primaire (V1) pour les 3 modèles de souris. (Droite) Reconstruction des différentes couches corticales du cortex visuel primaire dans lesquelles les neurones C-Fos-positifs forment des points bleus. Notez l'activation marquée du cortex visuel primaire de la souris ZRDCT anophtalme lors de stimuli auditifs comparativement au cortex visuel primaire des souris C57Bl/6 énucléées et contrôles. Notez également la présence d'une activation non-nulle de certains neurones dans le cortex visuel primaire des souris contrôles et énucléées (Chabot et al. 2007).

La privation visuelle pourrait également entraîner une augmentation de la densité de connexions thalamocorticales non-visuelles. En effet, des connexions thalamocorticales entre le cortex visuel primaire et les noyaux thalamiques non-visuels,

tels que les noyaux latéraux postérieurs (LP), médiaux antérieurs (AM) et latéraux dorsaux (LD) ont été observés chez divers modèles animaux aveugles congénitaux, énucléés à la naissance ainsi que des modèles animaux voyants (Charbonneau et al. 2012).

Premièrement, les connexions thalamocorticales des noyaux LP ont été observées chez les hamsters (Dursteler et al. 1979) et les souris (Godement et al. 1979; Kaiserman-Abramof et al. 1980; Garrett et al. 1992; Charbonneau et al. 2012). La privation visuelle entraînerait une augmentation de la densité des connexions thalamocorticales des noyaux LD dans le cortex visuel primaire des souris ZRDCT anophtalmes comparativement aux souris contrôles (Godement et al. 1979; Kaiserman-Abramof et al. 1980).

Deuxièmement, les connexions thalamocorticales des noyaux LD ont été observées chez les campagnols des prairies (Campi et al. 2010), les hamsters (Dursteler et al. 1979), les souris (Garrett et al. 1992; Charbonneau et al. 2012) et les opossums (Karlen et al. 2006). Certaines études montrent qu'une privation visuelle entraîne une augmentation de la densité des connexions thalamocorticales des noyaux LD chez les souris ZRDCT anophtalmes que les souris contrôles (Godement et al. 1979; Kaiserman-Abramof et al. 1980) tandis qu'une autre étude montre que la privation visuelle entraîne une augmentation de la densité des connexions chez les souris C57Bl/6 énucléées comparativement aux souris anophtalmes et contrôles (Charbonneau et al. 2012).

Troisièmement, les connexions thalamocorticales des noyaux AM ont été observées chez les rats (Rieck et Carey 1985) et les souris (Charbonneau et al. 2012). La privation visuelle entraînerait une augmentation de la densité des connexions thalamocorticales des noyaux AM dans le cortex visuel primaire des souris ZRDCT anophtalmes comparativement aux souris C57Bl/6 énucléées ou voyantes contrôles (Charbonneau et al. 2012).

En somme, les évidences suggèrent que la privation visuelle entraîne une augmentation de la densité des connexions thalamocorticales des noyaux non-visuels chez les souris ZRDCT anophtalmes, mais peu de changements chez les souris énucléées ou voyantes. Aussi, l'augmentation de la densité des connexions thalamocorticales non-visuelles serait probablement en mesure d'expliquer, avec les connexions thalamocorticales du CGLd, la présence d'activité thalamocorticale et les niveaux élevés d'expression de la protéine c-fos dans le cortex visuel primaire des souris ZRDCT anophtalmes dans l'étude de Chabot et collègues.

Au niveau des connexions glutamatergiques corticocorticales, des études ont démontré qu'il y avait des connexions corticocorticales directes entre le cortex visuel primaire et les cortex auditifs chez des humains (Klinge et al. 2010), des primates (Falchier et al. 2002), des chats (Hall et Lomber 2008) et des souris (Larsen et al. 2009; Laramée et al. 2012; Charbonneau et al. 2012) et somatosensoriel primaire des souris (Wang et Burkhalter 2007; Charbonneau et al. 2012; Wang et al. 2012). Aussi, des connexions corticocorticales indirectes entre le cortex auditif primaire et le cortex visuel primaire en faisant des synapses avec les neurones du cortex visuel secondaire ont été observées chez des souris énucléées bilatéralement à la naissance (Laramée et al. 2011).

Ceci étant dit, il a été suggéré que la privation visuelle entraînerait des modifications dans la connectivité du cortex visuel primaire de sujets aveugles précoces, notamment par la mise en place de nouvelles connexions corticocorticales, le démasquage de connexions corticocorticales silencieuses ou par une amplification des connexions corticocorticales existantes (Bavelier et Neville 2002; Pascual-Leone et al. 2005). Donc, on devrait s'attendre à ce que la privation visuelle entraîne une augmentation de la densité des connexions corticocorticales directes et indirectes dans le cortex visuel primaire des modèles animaux de cécité précoce.

Cependant, la majorité des études animales montre que la privation visuelle n'entraîne pas la formation de nouvelles connexions corticocorticales ou une amplification des connexions corticocorticales du cortex visuel primaire chez des

modèles animaux de cécité précoce (Karlen et al. 2006; Charbonneau et al. 2012). Conséquemment, il a été suggéré que la privation visuelle pourrait probablement entraîner une augmentation de la densité des connexions corticocorticales en démasquant les connexions corticocorticales silencieuses dans le cortex visuel primaire de sujets aveugles précoces (Charbonneau et al. 2012).

Au niveau des connexions GABAergiques intracorticales, la diminution des niveaux d'activité visuelle afférente occasionnée par la privation visuelle devrait entraîner une diminution de la densité de ces connexions dans le cortex visuel primaire de modèles de cécité précoce afin de favoriser un retour à l'équilibre excitation-inhibition.

Un grand principe de l'homéostasie du cortex cérébral est le maintien d'un équilibre entre les niveaux d'activité glutamatergique et GABAergique par divers mécanismes homéostatiques. Par exemple, une diminution des niveaux d'activité glutamatergique entraîne une augmentation de l'excitabilité des synapses glutamatergiques et une diminution des niveaux d'activité GABAergique sur les neurones glutamatergiques. À l'opposé, une augmentation des niveaux d'activité glutamatergique dans le cortex entraîne une augmentation proportionnelle des niveaux d'activité GABAergique intracorticale (Turrigiano 1999; Turrigiano et Nelson 2000; Turrigiano et Nelson 2004; Maffei et al. 2004; Maffei et al. 2012). Cette tendance du cortex cérébral à modifier les niveaux d'activité neuronale est représentée par le concept d'équilibre excitation-inhibition.

Donc, la privation visuelle pourrait entraîner une diminution de la densité des connexions GABAergiques intracorticales pour contrebalancer la diminution des niveaux d'activité glutamatergiques dans le cortex visuel primaire. Or, il a été démontré chez des rats privés visuellement que la densité des connexions GABAergiques dans le cortex visuel primaire n'est pas modifiée suite à la privation visuelle (Maffei et al. 2006). Toutefois, une étude révèle que les signaux inhibiteurs des connexions GABAergiques sur les neurones glutamatergiques sont diminués dans le cortex visuel

primaire (Maffei et al. 2004). Ces évidences suggèrent que la privation visuelle entraîne la modification des synapses GABAergiques plutôt que la densité des connexions GABAergiques dans le cortex visuel primaire.

1.2.3.3 Modifications anatomiques synaptiques

Au niveau des synapses, des études ont démontré qu'il y avait une diminution de la densité d'épines dendritiques dans le cortex visuel primaire des rats énucléés bilatéralement (Ryugo et al. 1975b), des lapins énucléés ou ayant des lésions du thalamus visuel (Globus et Scheibel 1967) et des souris élevées à l'obscurité (Valverde 1967). De plus, une étude montre que la privation visuelle entraîne la modification des terminaisons présynaptiques des connexions thalamocorticales du cortex visuel primaire de chats énucléés monoculairement à la naissance, notamment une diminution de la taille des boutons présynaptiques (Tieman 1984).

Il est à mentionner qu'une augmentation de la densité des épines dendritiques et du nombre de neurones a été observée dans le cortex auditif de rats après avoir subi une privation visuelle ou une désafférentation somatosensorielle (Ryugo et al. 1975a). De plus, il a été montré que la densité des épines dendritiques du cortex somatosensoriel primaire n'est pas augmentée chez des souris élevées à l'obscurité (Valverde 1967).

En somme, la privation visuelle pourrait possiblement entraîner des changements dans l'expression des composantes biochimiques présynaptiques et postsynaptiques dans les différents cortex sensoriels primaires de sujets aveugles précoces.

1.2.4 Modifications biochimiques

À l'échelle biochimique, les composantes synaptiques les plus souvent affectées par la variation des niveaux d'activité sont les récepteurs membranaires de neurotransmetteurs (Bear et Malenka 1994; Malinow et Malenka 2002; Malenka et Bear 2004; Ju et al. 2004).

Ces récepteurs membranaires ont pour rôle de lier les neurotransmetteurs dans la fente synaptique et d'induire l'entrée d'ions dans les épines dendritiques pour induire une dépolarisation (excitation) ou une hyperpolarisation (inhibition) neuronale (Bear et al. 2002). Le glutamate est le principal neurotransmetteur utilisé par les neurones excitateurs du système nerveux central des mammifères (Fonnum et al. 1979; Watkins et Evans 1981; Palmada et Centelles 1998; Meldrum 2000; Reimer et al. 2001) tandis que l'acide γ -aminobutyrique (GABA) est le principal neurotransmetteur inhibiteur (Jones 1993; Markram et al. 2004).

Les récepteurs impliqués dans la transmission synaptique glutamatergiques sont classifiés et nommés selon leur agoniste spécifique : les récepteurs **AMPA** lient l'acide 2-amino-3-(5-méthyl-3-oxo-1,2-oxazol-4-yl) propanoïque et **NMDA** lient l'acide N-Méthyl-D-aspartique (Dingledine et al. 1999). Les récepteurs AMPA sont des hétérotétramères (dimère de dimères) formés de deux paires de sous-unités GluR (Watkins et Jane 2006). Les sous-unités sont numérotées de un à quatre (GluR1 à GluR4) et forment des dimères fonctionnels par association de GluR1 et GluR4 ainsi que GluR2 et GluR3 (Mayer 2006; Sobolevsky et al. 2009). Les récepteurs NMDA sont composés de dimère de dimère sous forme de sous-unités NR (Watkins et Jane 2006). Il existe trois types de sous-unité NR (NR1, NR2 et NR3) qui forment le récepteur NMDA par une association entre la sous-unité obligatoire NR1 et une sous-unité NR2 (NR2A ou NR2B) ou NR3 (Cull-Candy et Leszkiewicz 2004; Furukawa et al. 2005).

Lorsqu'il y a une privation visuelle, les sous-unités qui composent les récepteurs AMPA et NMDA sont modifiées dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires. Par exemple, il a été démontré que l'expression des sous-unités NR2A des récepteurs NMDA est significativement réduite dans le cortex visuel primaire de rats (Albanese et al. 1983; Cotrufo et al. 2003) et de souris (Chen et Bear 2007) élevé à l'obscurité. De plus, un recrutement accru sur la membrane des neurones postsynaptiques des sous-unités GluR1 et NR2B des récepteurs AMPA et NMDA respectivement a été observé dans le cortex visuel primaire d'animaux aveugles élevés à l'obscurité, ce qui entraînait une augmentation de l'amplitude des potentiels

postsynaptiques excitateurs (PPSE) (Figure 1.4) (Philpot et al. 2001; Desai et al. 2002; Yashiro et al. 2005; Goel et al. 2006; Chen et Bear 2007; Yashiro et Philpot 2008).

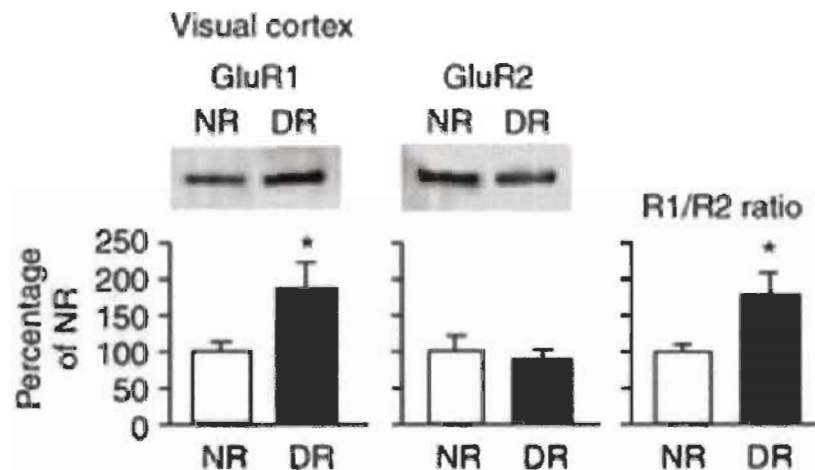


Figure 1.4 Modulation de la force excitatrice postsynaptique dans V1.

Étude d'immunobuvardage de type Western sur la modulation de l'expression des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs glutamatergiques dans le cortex visuel primaire de rats élevés à l'obscurité. Les graphiques démontrent une augmentation marquée de l'expression des sous-unités GluR1 des récepteurs glutamatergiques postsynaptiques chez les rats élevés à l'obscurité (DR-*dark reared*) comparativement aux rats des rats élevés dans un régime de luminosité normal (NR-*normal-reared*) ou rats contrôles. De plus, aucune modulation significative des sous-unités GluR2 n'a été constatée entre les rats aveugles et les contrôles (Goel et al. 2006).

Certaines modifications biochimiques ont également été observées dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de rats élevés à l'obscurité, notamment une diminution significative des niveaux d'expression des sous-unités GluR1 lorsque les niveaux d'expression sont comparés à ceux des rats contrôles (Figure 1.5) (Goel et al. 2006). Ces résultats concordent avec certaines évidences qui montrent que la perte d'un sens entraîne des modifications dans les structures des autres modalités sensorielles intactes (Ryugo et al. 1975a; Bavelier et Neville 2002). Ceci est important puisque la privation visuelle pourrait entraîner une augmentation des niveaux d'expression de certaines protéines présynaptiques dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires.

Nous en discuterons un peu plus loin dans la section sur l'enrichissement sensoriel des autres modalités sensorielles lors de la privation visuelle.

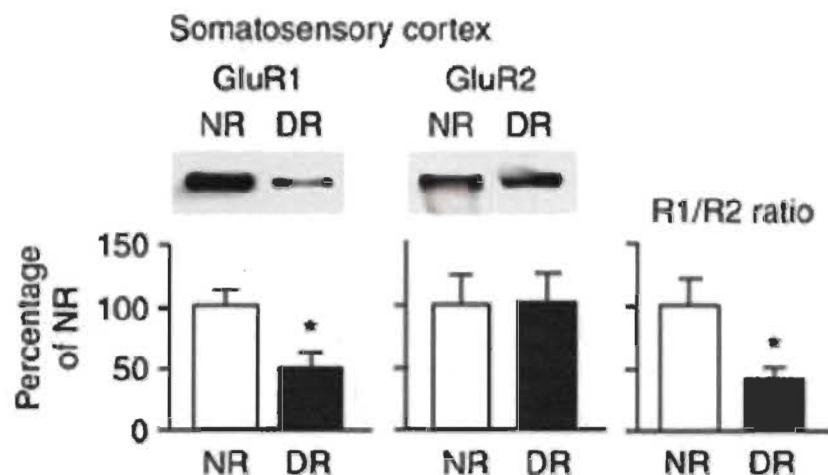


Figure 1.5 Modulation de la force excitatrice postsynaptique dans S1.

Étude d'immunobuvardage de type Western de l'expression des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs glutamatergiques dans le cortex somatosensoriel primaire de rats élevés à l'obscurité. Les graphiques démontrent une diminution significative de l'expression de la sous-unité GluR1 des récepteurs glutamatergiques postsynaptiques chez les rats élevés à l'obscurité (DR) comparativement aux rats élevés dans un régime de luminosité normal (NR). De plus, aucune modulation significative de la sous-unité GluR2 n'a été constatée entre les rats élevés à l'obscurité et les rats élevés dans un régime de luminosité normal (Goel et al. 2006).

La privation visuelle entraîne aussi des modifications biochimiques au niveau des composantes présynaptiques dans le cortex visuel primaire. En effet, une étude a démontré que les terminaisons présynaptiques des neurones du cortex visuel primaire des rats privés visuellement relâchent plus rapidement leur contenu vésiculaire en neurotransmetteurs lorsqu'elles sont soumises à des dépolarisations successives comparativement aux terminaisons présynaptiques des rats élevés dans un régime de luminosité normal (contrôles) (Figure 1.6) (Yashiro et al. 2005). Aussi, ces résultats impliquent que, suite à une privation visuelle, une plus grande quantité de vésicules synaptiques se fusionne avec la membrane présynaptique pour relâcher la totalité de leur contenu en neurotransmetteurs pour une même dépolarisation. Conséquemment, les

terminaisons présynaptiques épuisent plus rapidement leur réserve de vésicules synaptiques fonctionnelles dans les synapses du cortex visuel primaire privé visuellement que les synapses du cortex visuel qui reçoit de l'activité visuelle afférente.

Ces résultats suggèrent qu'il y a un recyclage important des vésicules synaptiques vides dans les terminaisons présynaptiques du cortex visuel primaire suite à une privation visuelle. De ce fait, on devrait s'attendre à ce que la perte de la vision entraîne la modification des niveaux d'expression des protéines responsables du remplissage de neurotransmetteurs dans les vésicules synaptiques du cortex visuel primaire.

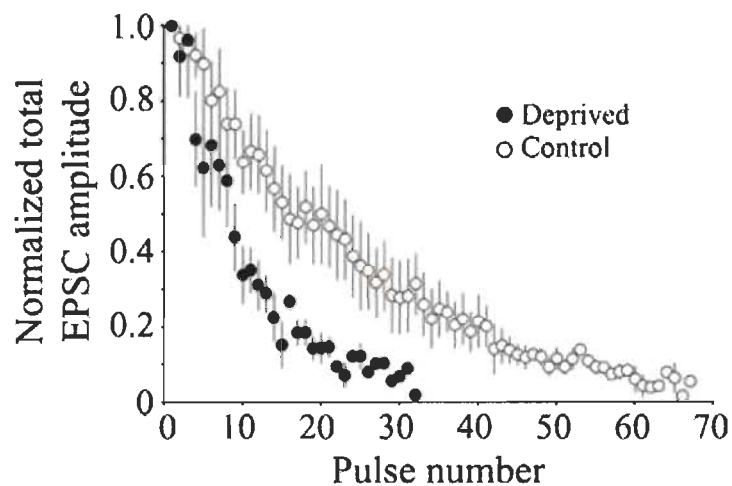


Figure 1.6 Modulation de la force excitatrice présynaptique dans V1.

Représentation graphique d'un test de *Paired-pulse facilitation* ou facilitation neuronale (Thomson 2000) pour les synapses du cortex visuel primaire chez des rats élevés à l'obscurité. La valeur des amplitudes relatives des potentiels postsynaptiques excitateurs (PPSE/EPSC) se retrouve en ordonnée pour les synapses des rats élevés à l'obscurité (Noir) et des rats élevés dans un régime de luminosité normal (contrôles) (Blanc). Après environ 30 décharges successives, la relâche de neurotransmetteurs excitateurs par la terminaison présynaptique des synapses du cortex visuel primaire des rats aveugles n'est plus en mesure d'induire une dépolarisation du neurone postsynaptique comparativement aux synapses des rats élevés dans un régime de luminosité normal (contrôles) (Yashiro et al. 2005).

1.3 Les transporteurs vésiculaires de neurotransmetteurs

Il est connu que la transmission synaptique de l'activité neuronale nécessite la synthèse et la libération de neurotransmetteurs comme le glutamate et le GABA (Bear et al. 2002). Dans les terminaisons présynaptiques, les neurotransmetteurs sont emmagasinés dans des vésicules synaptiques à l'aide des transporteurs vésiculaires spécifiques aux neurotransmetteurs (Masson et al. 1999; Daniels et al. 2006; Edwards 2007). Ensuite, les vésicules sont entreposées près de la membrane présynaptique jusqu'à la dépolarisation du neurone, entraînant alors la fusion des vésicules synaptiques avec la membrane plasmique et la relâche des neurotransmetteurs dans la fente synaptique (Jahn et Sudhof 1993; Jahn et Sudhof 1994).

Certaines études ont démontré que les transporteurs vésiculaires contrôlent la quantité de neurotransmetteurs contenue dans la vésicule synaptique (Colliver et al. 2000; Gong et al. 2003) et qu'une augmentation du nombre de transporteurs vésiculaires sur la membrane plasmique des vésicules synaptiques entraîne une augmentation de la taille des vésicules et de leur concentration en neurotransmetteurs (Figure 1.7) (Edwards 2007). De plus, il est connu que les seuils de dépolarisation de la membrane postsynaptique sont augmentés lorsqu'il y a une plus grande quantité de neurotransmetteurs relâchée par les vésicules dans la fente synaptique (Edwards 2007). Donc, il y aurait une corrélation entre le nombre de transporteurs vésiculaires sur la vésicule synaptique et la modification des seuils de dépolarisation postsynaptique (Daniels et al. 2006).

Comme certaines évidences montrent que la privation visuelle entraîne une augmentation de la probabilité de relâche de neurotransmetteurs des synapses excitatrices du cortex visuel primaire (Yashiro et al. 2005), il est possible que les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques soient également augmentés dans les terminaisons présynaptiques des connexions thalamocorticales et corticocorticales du cortex visuel primaire.

De plus, si l'on considère que les niveaux d'activité glutamatergique afférente sont diminués suite à la privation visuelle, on devrait s'attendre à ce que les niveaux d'activité GABAergique soient également diminués dans le cortex visuel primaire. Conséquemment, il est probable que la perte de la vision entraîne une diminution des niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires GABAergiques pour réduire la quantité de GABA libérée à la synapse et ainsi diminuer les signaux inhibiteurs sur les neurones glutamatergiques.

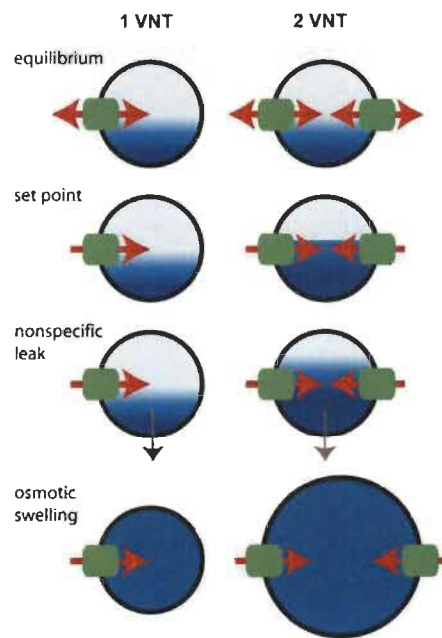


Figure 1.7 Effets des transporteurs vésiculaires sur la vésicule synaptique. À gauche, un seul transporteur vésiculaire de neurotransmetteurs est en mesure de remplir efficacement une vésicule synaptique afin que celle-ci puisse relâcher un quantum lors de l'exocytose. À droite, l'ajout d'un second transporteur vésiculaire induit une augmentation de la taille de la vésicule synaptique (*osmotic swelling*). En conséquence, la quantité de neurotransmetteurs emmagasinée dans la vésicule synaptique est augmentée ce qui permet la formation d'un plus grand quantum lors de la transmission synaptique (Edwards 2007).

Ceci étant dit, trois transporteurs vésiculaires spécifiques du glutamate et un spécifique au GABA ont été décrits, possédant chacun des caractéristiques qui permettent de les différencier, notamment par leur localisation dans les connexions synaptiques des régions corticales et sous-corticales.

1.3.1 Transporteurs vésiculaires glutamatergiques

VGluT1 possède les caractéristiques clés pour l'insertion de glutamate dans la vésicule synaptique; comme une importante affinité pour le glutamate, une incapacité à transporter l'aspartate, la glutamine ou le GABA. Également, il démontre une dépendance face au gradient de proton (ΔpH), au gradient électrique du potentiel transmembranaire vésiculaire ($\Delta \Psi$) et au chlore diphasique (Disbrow et al. 1982; Naito et Ueda 1985). Ceci est important puisque l'insertion de glutamate dans une vésicule nécessite la sortie d'un proton (H^+) pour faciliter l'entrée du neurotransmetteur contre son gradient de concentration (Gasnier 2000). Pour obtenir une concentration importante de proton dans la lumière de la vésicule et favoriser l'échange, une pompe vacuolaire H^+ ATPase activée par le magnésium (Mg^{2+}) sur la membrane vésiculaire génère le gradient de proton. De plus, le déplacement des protons dans la lumière de la vésicule entraîne l'établissement d'un gradient électrique transmembranaire ($\Delta \Psi$) (Forgac 2000; Bai et al. 2001). Le gradient électrique transmembranaire ($\Delta \Psi$) est le potentiel inducteur (*driving force*) principal pour l'accumulation du glutamate dans la vésicule synaptique (Edwards 2007).

VGluT1 se localise principalement dans les terminaisons présynaptiques des connexions glutamatergiques corticocorticales du cortex cérébral et de l'hippocampe (Figure 1.7) (Ni et al. 1995; Freneau, Jr. et al. 2004a; El Mestikawy et al. 2011). Cette caractéristique est très importante puisqu'elle permettrait d'étudier exclusivement les modifications biochimiques présynaptiques des connexions corticocorticales du cortex visuel primaire. Comme certaines évidences suggèrent que la privation visuelle entraînerait probablement un démasquage des connexions corticocorticales silencieuses, on pourrait s'attendre à ce que les niveaux d'expression de VGluT1 soient augmentés dans le cortex visuel primaire de sujets aveugles précoces.

De plus, il a été démontré que les niveaux d'expression de VGluT1 seraient corrélés avec la probabilité de relâche du glutamate et de la force excitatrice des synapses (Wilson et al. 2005). Donc, il est probable que l'activité intermodale présente dans les connexions corticocorticales visuelles puisse également entraîner une augmentation des niveaux d'expression de VGluT1 dans le cortex visuel primaire.

VGluT2 est comparable à VGluT1 sur le plan fonctionnel et structurel. Plusieurs études ont démontré les capacités de VGluT2 à transporter spécifiquement le glutamate dans les vésicules synaptiques (Herzog et al. 2001) et sa localisation dans les neurones glutamatergiques (Bellocchio et al. 1998; Herzog et al. 2001). Toutefois, VGluT2 est principalement exprimé dans les régions sous-corticales comme le thalamus, le cervelet et le pons et se localise préférentiellement dans les terminaisons présynaptiques des connexions glutamatergiques thalamocorticales (Aihara et al. 2000; Hisano et al. 2000; Kaneko et Fujiyama 2002; Fremeau, Jr. et al. 2004a; El Mestikawy et al. 2011). Bien que les connexions thalamocorticales proviennent des structures sous-corticales du cerveau, leurs terminaisons axonales font des connexions synaptiques avec des neurones de la couche 4 des différents cortex sensoriels primaires (Figure 1.8). De ce fait, la localisation sélective de VGluT2 dans les terminaisons des connexions thalamocorticales est la principale différence qui le distingue des VGluT1, permettant ainsi d'étudier les connexions thalamocorticales séparément des connexions corticocorticales dans les différentes couches du cortex cérébral.

Certaines évidences suggèrent que la privation visuelle entraîne la mise en place de nouvelles connexions thalamocorticales du cortex visuel primaire, notamment chez les opossums énucléés bilatéralement à la naissance (Karlen et al. 2006). Or, il a démontré que la perte de la vision n'entraînait pas la formation de nouvelles connexions thalamocorticales chez les modèles animaux aveugles ou voyants (Charbonneau et al. 2012). Alors, on devrait s'attendre à ce que les niveaux d'expression de VGluT2 soient diminués dans le cortex visuel primaire des modèles animaux aveugles précoces étant donné la diminution de la l'activité visuelle afférente suite à la perte de la vision.

VGluT3 possède les mêmes caractéristiques que VGluT1 et VGluT2 (Freneau, Jr. et al. 2002; Schafer et al. 2002). Toutefois, des études ont démontré qu'il est situé uniquement dans les neurones non-glutamatergiques (Figure 1.8). Plus spécifiquement, VGluT3 serait exprimé dans environ 80 % des neurones sérotoninergiques des noyaux du raphé (Schafer et al. 2002) et dans certaines terminaisons axonales de neurones sérotoninergiques de l'hippocampe et du cortex cérébral (Amilhon et al. 2010), acétylcholinergiques du striatum, du *nucleus basalis* et dans certaines sous-populations d'interneurones GABAergiques de l'hippocampe et du cortex cérébral (Schafer et al. 1998; Gras et al. 2002; Somogyi et al. 2004). Étant donné sa co-localisation dans les neurones non-glutamatergiques (Gras et al. 2002; Gras et al. 2008; Amilhon et al. 2010; El Mestikawy et al. 2011), VGluT3 ne sera pas analysé dans notre étude.

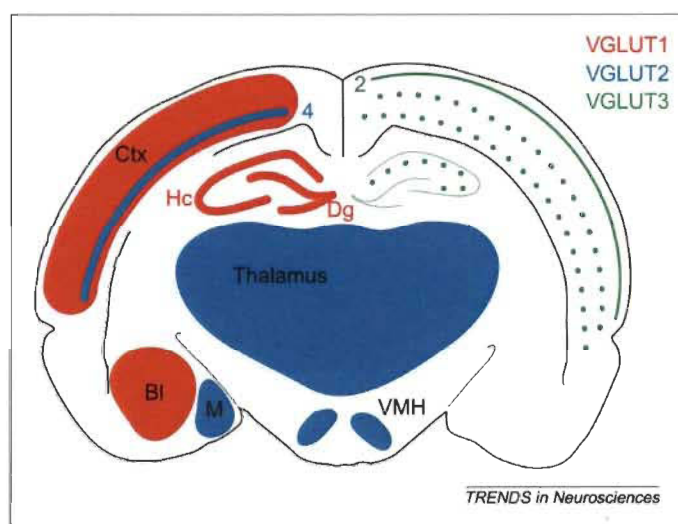


Figure 1.8 Distribution des transporteurs vésiculaires du glutamate chez le rat. Représentation schématique de la distribution des brins d'ARN messager qui code pour les transporteurs vésiculaires du glutamate (VGluTs) sur une coupe coronale du cerveau du rat. Le transporteur vésiculaire du glutamate 1 (VGluT1) est exprimé principalement dans le cortex cérébral et dans l'hippocampe (**Rouge**) tandis que le transporteur vésiculaire du glutamate 2 (VGluT2) est principalement exprimé dans les régions sous-corticales, incluant le thalamus et le pons et la couche 4 (couche granulaire) du cortex cérébral (**Bleu**). Le transporteur vésiculaire du glutamate 3 (VGluT3) est exprimé dans les neurones sérotoninergiques des noyaux du raphé, dans les neurones acétylcholinergiques du striatum et du cortex frontal et dans certains interneurones GABAergiques du cortex cérébral et de l'hippocampe (**Vert**). (Freneau, Jr. et al. 2004b)

1.3.2 Transporteur vésiculaire GABAergique

Le GABA possède également un transporteur vésiculaire spécifique (VGAT-*vesicular GABA transporter*) sur la membrane des vésicules synaptiques des interneurons inhibiteurs corticaux et sous-corticaux (Chaudhry et al. 1998). Les VGATs, comme les VGluTs, utilisent de manière équivalente le gradient H^+ électrochimique établi par une pompe (H^+)-ATPase vacuolaire et le gradient électrique du potentiel transmembranaire vésiculaire ($\Delta\Psi$) pour incorporer le GABA dans la vésicule synaptique (Fykse et Fonnum 1988). Les VGAT sont localisés dans la majorité des terminaisons présynaptiques des interneurons GABAergiques du cerveau des mammifères, principalement dans le cortex cérébral, l'hippocampe et les cellules de Purkinje du cervelet (Chaudhry et al. 1998; El Mestikawy et al. 2011).

Les VGAT contrôlent la quantité de GABA inséré dans les vésicules synaptiques et, tout comme les VGluTs, influencent l'activité présynaptique neuronale. Il est connu que la modulation de l'activité excitatrice des connexions glutamatergiques est effectuée principalement par l'inhibition GABAergique, à défaut de quoi l'activité excitatrice synaptique pourrait devenir trop importante dans le milieu cortical et entraîner de l'excitotoxicité neuronale (Miller et MacKay 1994; Miller 1996; Douglas et Martin 2009). Donc, comme la privation visuelle induit une diminution importante de l'activité visuelle afférente et la tendance du cortex cérébral à maintenir un équilibre excitation-inhibition, on devrait s'attendre à ce que les niveaux d'expression de VGAT soient diminués dans le cortex visuel primaire d'un sujet aveugle précoce.

1.4 Enrichissement sensoriel

Nous avons mentionné auparavant que certaines modifications ont été observées dans les modalités sensorielles intactes suite à la privation visuelle, notamment une hypertrophie des aires auditives (Gyllensten et al. 1965) et du champ de tonneaux du cortex somatosensoriel primaire (Bronchti et al. 1992; Rauschecker et al. 1992) de différents modèles animaux de cécité précoce.

Ces évidences ont mené un groupe de chercheurs à proposer que la privation visuelle soit une forme d'enrichissement sensoriel pour les modalités sensorielles restantes (Ryugo et al. 1975a) et que l'hypertrophie des aires sensorielles intactes pourrait provenir de l'adoption d'un comportement qui sollicite davantage les autres modalités sensorielles suite à la perte d'un sens (Rauschecker et al. 1992).

Également, il a été proposé que la sollicitation accrue des autres sens pourrait probablement expliquer les modifications fonctionnelles et/ou les capacités discriminatives accrues observées chez des sujets aveugles précoces (Rauschecker 1995). Par exemple, un individu aveugle pourrait utiliser davantage son ouïe et ses sens tactiles pour se déplacer ou s'orienter dans son environnement (Merabet et Pascual-Leone 2010). De ce fait, le comportement de la personne aveugle favorise une sollicitation accrue des modalités sensorielles intactes qui entraînera probablement une augmentation de l'activité sensorielle afférente. Or, nous supposons que ces modifications pourraient être mises en évidence par une hausse des niveaux d'expression de VGluT2 dans les connexions thalamocorticales des cortex auditif et somatosensoriel primaires.

Il est connu que l'enrichissement sensoriel entraîne des modifications dans le cortex cérébral, notamment au niveau synaptique. En effet, une étude récente montre une augmentation de l'activité excitatrice thalamocorticale dans le cortex visuel primaire de rats voyants lorsqu'ils sont élevés dans une grande cage à trois étages contenant une roue d'exercice et divers objets de toutes formes dont des tubes, des caches et des échelles (Figure 1.9) (Mainardi et al. 2010). L'étude suggère que la potentialisation de l'activité excitatrice thalamocorticale proviendrait de l'enrichissement environnemental ce qui entraînerait une augmentation des niveaux d'expression de VGluT2 dans le cortex visuel primaire (Figure 1.10) étant donné que l'environnement rehausserait l'expérience visuelle des rats élevés dans le milieu enrichi comparativement aux rats élevés en milieu contrôle (Mainardi et al. 2010).



Figure 1.9 Exemple d'un enrichissement environnemental.

L'enrichissement environnemental constitue la modification d'un environnement standard et des conditions de vie d'animaux de laboratoire afin d'optimiser la qualité et l'intensité des stimuli sensoriels offerts par l'environnement. Le rôle de l'enrichissement environnemental est de promouvoir un milieu de vie qui offre des niveaux accrus de stimuli multisensoriels, d'interaction sociale, d'activité physique et de favoriser l'exploration chez les animaux (Baroncelli et al. 2010). (Image faite par M. Marchi)

Ces résultats suggèrent que l'enrichissement sensoriel de l'environnement entraîne une hausse de l'activité excitatrice afférente dans le cortex visuel primaire. De ce fait, on devrait s'attendre à ce que les niveaux d'expression de VGluT2 augmentent dans les connexions thalamocorticales du cortex visuel primaire de sujets aveugles précoces considérant la perte de la vision comme une forme d'enrichissement sensoriel pour les modalités sensorielles intactes.

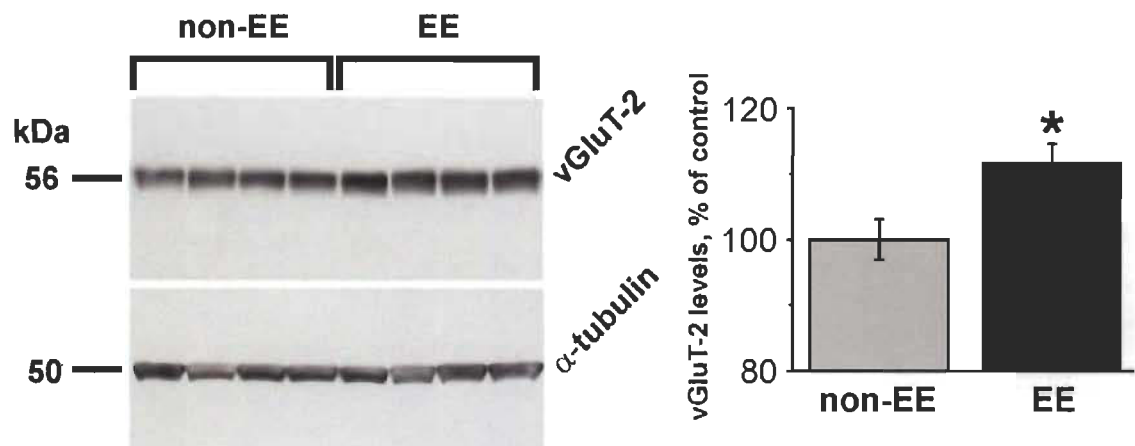


Figure 1.10 Modulation de la force excitatrice présynaptique thalamocorticale. (À gauche) Immunobuvardage de type Western sur des protéines du cortex visuel primaire de rats voyants contrôles (non-EE) et élevés en milieu enrichi (EE). (À droite) Histogramme de l'expression relative des VGluT2 dans le cortex visuel primaire des rats voyants contrôles (non-EE) et élevés en milieu enrichi (EE). Il y a une augmentation significative d'environ 10 % de l'expression des VGluT2 dans le cortex visuel primaire des rats dans le milieu enrichi comparativement aux rats contrôles. La force excitatrice présynaptique thalamocorticale est modulée à la hausse lors d'un enrichissement environnemental (Mainardi et al. 2010).

L'étude montre que l'enrichissement environnemental entraînerait également une augmentation de l'activité excitatrice corticocorticale dans le cortex visuel primaire des rats élevés en milieu enrichi, notamment par la hausse des niveaux d'expression de VGluT1 comparativement au niveau d'expression de VGluT1 chez les rats élevés dans un milieu non-enrichi (Figure 1.11). Or, l'étude suggère que l'enrichissement sensoriel favorise la transmission de l'activité excitatrice intracorticale dans laquelle est impliquée la protéine VGluT1. Considérant la privation visuelle comme une forme d'enrichissement sensoriel pour les autres modalités sensorielles intactes, on pourrait s'attendre à ce que les niveaux d'expression de VGluT1 soient augmentés dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires des sujets aveugles précoces.

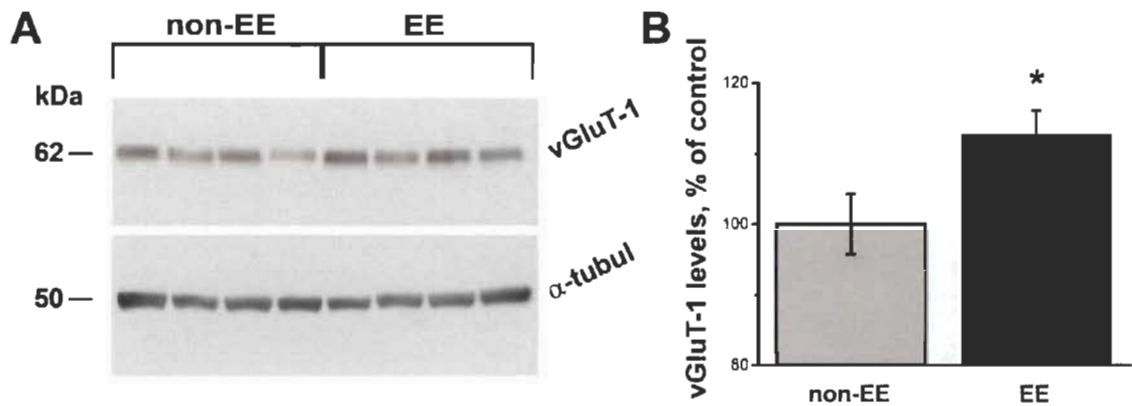


Figure 1.11 Modulation de la force excitatrice présynaptique corticocorticale. (À gauche) Immunobuvardage de type Western sur des protéines du cortex visuel primaire de rats voyants contrôles (non-EE) et élevés en milieu enrichi (EE). (À droite) Histogramme de l'expression relative des VGluT1 dans le cortex visuel primaire des rats voyants contrôles (non-EE) et élevés en milieu enrichi (EE). Il y a une augmentation significative d'environ 10 % de l'expression des VGluT1 dans le cortex visuel primaire des rats élevés en milieu enrichi comparativement aux rats contrôles. La force excitatrice présynaptique corticocorticale est modulée à la hausse lors d'un enrichissement sensoriel environnemental (Mainardi et al. 2010).

Suite à l'enrichissement sensoriel, une importante quantité d'afférences excitatrices qui provient de la périphérie va emprunter les connexions glutamatergiques thalamocorticales vers leur cortex sensoriel respectif et entraîner une augmentation des niveaux d'activité glutamatergique thalamocorticale. Conséquemment à la hausse des niveaux d'activité exciteur dans les modalités sensorielles, on devrait s'attendre à une augmentation des niveaux d'activité GABAergique intracorticale afin de favoriser un retour vers l'équilibre excitation-inhibition cortical. De ce fait, il est possible que les niveaux d'expression de VGAT soient augmentés dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires des sujets aveugles précoces.

1.5 Modèle animaux

Deux souches de souris seront utilisées dans nos expériences. La souris C57Bl/6, qui est couramment utilisée dans les recherches biomédicales, et la souris ZRDCT/An, une souris anophtalme congénitale (Chase et Chase 1941) utilisée dans plusieurs études sur le rôle de l'information visuelle sur le développement des aires visuelles (Olavarria et Van Sluyters 1984; Rhoades et al. 1985; Laemle et al. 1993; Laemle et al. 1999; Piché et al. 2004; Laemle et al. 2006; Chabot et al. 2007; Chabot et al. 2008).

La souris C57Bl/6 est utilisée à deux fins : 1) La souris C57Bl/6 intacte est utilisée à titre de contrôle et 2) comme un premier modèle de cécité lorsqu'elle subit une énucléation bilatérale dans les 24 heures suivant la naissance. La souris ZRDCT/An anophtalme est utilisée comme second modèle de la cécité. Chez cette souris, ni la rétine, ni le nerf optique ne se développent durant la période embryonnaire (Chase et Chase 1941). Cette anophtalmie congénitale survient suite à une mauvaise fermeture de la fente colobomique lors de la formation des globes oculaires (Tucker et al. 2001). Les vésicules optiques émergent normalement de la face antérieure du tube neural, mais leur taille est réduite. De ce fait, elles ne parviennent pas à maintenir un bon contact avec la surface de l'ectoderme. Ces modifications font suite à une mutation du locus *ey1* dans la région codante de l'exon du gène *Rx/rax* du chromosome 18 (Tucker et al. 2001). Ce modèle de cécité permet d'analyser un cortex visuel primaire qui n'a jamais reçu d'activité visuelle pré- et postnatale.

Avant l'ouverture des yeux, la corrélation de l'activité entre les cellules voisines de la rétine est à la base des processus développementaux comme la ségrégation des influx d'activité visuelle provenant des deux yeux ainsi que le raffinement de cartes rétinotopiques dans les aires visuelles primaires et associatives (Ackman et al. 2012). De plus, il a été démontré que les cartes rétinotopiques du cortex visuel primaire chez la souris ne se concrétisent qu'une semaine après la naissance (Cang et al. 2005). Au cours du développement de la rétine, des vagues spontanées de potentiel d'action ont été observées. Elles proviendraient de domaines restreints d'activité corrélée qui forment des mosaïques d'activation à l'intérieur de la couche de cellules ganglionnaires

(Nieuwenhuys 1994; Feller et al. 1996). Ces cellules ganglionnaires de la rétine projettent des axones vers le corps géniculé latéral dorsal (CGLd) où ils font synapses avec les cellules magnocellulaires et parvocellulaires thalamiques (Nieuwenhuys 1994; Shatz 1996). Lorsqu'elles quittent le CGLd, les radiations optiques cheminent jusqu'à la sous-plaque corticale où elles feront synapses vers le 16^e jour après la conception, pour ensuite atteindre le cortex visuel primaire vers le 21 jour post-conception (Clancy et al. 2001). De ce fait, l'énucléation bilatérale au premier jour postnatal, soit 21 jours post-conception, n'affecterait pas l'établissement des connexions thalamocorticales visuelles, ni les effets de l'activité spontanée aléatoire de la rétine embryonnaire mais empêcherait la maturation des cartes rétinotopiques dans le cortex visuel primaire après la naissance puisque celles-ci ne recevraient pas d'expérience visuelle. D'ailleurs, la présence d'activité visuelle embryonnaire dans le cortex visuel primaire chez la souris énucléée est la principale différence entre le premier et le second modèle de cécité dans notre étude puisqu'il n'y a pas d'activité visuelle de la rétine embryonnaire chez les souris anophtalmes congénitales.

1.6 Objectifs de recherche et hypothèses

Dans cette étude, nous avons tenté de vérifier si la privation visuelle modifie les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans les différents cortex sensoriels primaires de modèles animaux adultes de cécité précoce. De plus, nous allons vérifier si la privation visuelle entraîne la modification des niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans les modalités sensorielles intactes, considérant les effets d'un enrichissement sensoriel sur les forces excitatrices et inhibitrices présynaptiques dans le cortex visuel primaire (Mainardi et al. 2010).

Dans un premier temps, considérant la privation visuelle comme un facteur modifiant l'activité sensorielle afférente dans le cortex visuel primaire de sujets aveugles, nous allons vérifier l'expression des transporteurs vésiculaires du glutamate (VGluT1-VGluT2) et du GABA (VGAT) dans le cortex visuel primaire de souris adultes C57Bl/6 énucléées bilatéralement à la naissance et ZRDCT anophtalmes congénitales.

Tout d'abord, considérant la diminution de l'activité visuelle afférente qui provient de la périphérie suite à une privation visuelle et les études qui montrent des connexions thalamocorticales plus importantes chez les souris ZRDCT anophtalmes, nous nous attendons à ce que les niveaux d'expression de VGluT2 soient diminués significativement dans le cortex visuel primaire des souris C57Bl/6 énucléées, mais peu modifiés chez les souris ZRDCT anophtalmes.

Ensuite, considérant sa localisation dans les connexions corticocorticales et l'activation intermodale du cortex visuel primaire par des stimuli auditifs et tactiles, nous nous attendons à ce que les niveaux d'expression de VGluT1 soient augmentés significativement dans le cortex visuel primaire des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes.

Finalement, considérant que les niveaux d'activité excitatrice visuelle sont fortement diminués suite à une privation visuelle et le principe d'équilibre excitation-inhibition corticale, nous nous attendons à ce que les niveaux d'expression de VGAT soient diminués significativement dans le cortex visuel primaire des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes.

En second lieu, considérant l'hypothèse qu'une privation visuelle serait une forme d'enrichissement sensoriel pour les autres sens, nous allons vérifier les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires du glutamate (VGluT1-VGluT2) et du GABA (VGAT) dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de souris adultes C57Bl/6 énucléées bilatéralement à la naissance et ZRDCT anophtalmes congénitales.

Tout d'abord, considérant la privation visuelle comme une forme d'enrichissement sensoriel pour les autres modalités sensorielles et l'augmentation de l'activité excitatrice afférente suite à l'utilisation accrue des sens auditifs et tactiles chez les sujets aveugles, nous nous attendons également à ce que les niveaux d'expression de VGluT2 soient augmentés significativement dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes.

Ensuite, considérant la privation visuelle comme une forme d'enrichissement sensoriel pour les autres modalités sensorielles et l'augmentation de l'activité excitatrice intracorticale chez les animaux élevés en milieu enrichi, nous nous attendons également à ce que les niveaux d'expression de VGluT1 soient augmentés significativement dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes.

Finalement, considérant l'augmentation de l'activité excitatrice corticale suite à l'utilisation accrue des autres sens lors d'une privation visuelle et le principe d'équilibre excitation-inhibition corticale, nous nous attendons à ce que les niveaux d'expression de VGAT soient augmentés significativement dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes.

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 L'environnement expérimental

Toutes les manipulations sur nos modèles animaux respectent les directives du Conseil canadien de Protection des Animaux (CCPA) en science et ont été approuvées par le comité de bons soins aux animaux de l'Université du Québec à Trois-Rivières.

Pour notre étude, les souris étaient hébergées dans un milieu enrichi. Le milieu était constitué d'une grande cage (19 cm × 10,5 cm × 8 cm) dans laquelle des tubulures de plastique étaient disposées de façon aléatoire. Les tubulures servent à la formation de tunnels et de nids par les souris. De plus, la nourriture était cachée afin de favoriser l'exploration. L'utilisation d'un milieu enrichi est important puisqu'il a été démontré que l'enrichissement environnemental est directement impliqué dans la modification de composantes synaptiques (Sale et al. 2010; Mainardi et al. 2010; Scali et al. 2012), de la taille et de la densité des neurones corticaux (Beaulieu et Colonnier 1989a; Beaulieu et Colonnier 1989b) et du développement du cortex visuel (Cancedda et al. 2004; Sale et al. 2004; Tognini et al. 2012).

Les animaux étaient maintenus dans un cycle lumière-obscurité de 14 h - 10 h. La température était maintenue entre 20 et 22 °C et la ventilation était programmée pour faire 7.59 changements d'air par heure dans la salle d'hébergement. Les souris étaient nourries tous les jours et elles avaient accès à de l'eau fraîche en permanence.

2.2 Énucléation bilatérale

L'énucléation des souris C57Bl/6 doit se faire dans un délai inférieur à 24 h suivant la naissance puisque les axones thalamocorticaux ont fait synapse avec les neurones du cortex visuel primaire et il est important d'empêcher l'activité visuelle afférente d'être acheminée au cortex visuel primaire.

L'énucléation consiste à retirer le globe oculaire et à sectionner le nerf optique et l'artère ophtalmique. Pour ce faire, le souriceau est profondément anesthésié par hypothermie. Avec une lame de scalpel courbée, la fente palpébrale est incisée de manière à apercevoir l'oeil. L'oeil est alors retiré avec des pinces courbées (Dumont #7, Fine Science Tools Inc., Vancouver, Canada) en appuyant doucement sur les rebords de l'orbite tout en maintenant une pression sur les côtés du globe oculaire. Après que l'oeil soit sorti de son orbite, l'artère ophtalmique et le nerf optique sont sectionnés et le globe oculaire est retiré. Afin de diminuer l'hémorragie, un morceau de Gelfoam® (Upjohn, Kalamazoo, Michigan, USA) est déposé à l'intérieur de l'orbite et la fente palpébrale est refermée en rapprochant les paupières l'une contre l'autre pour faciliter leur fusion. Une fois les deux yeux retirés, la souris est réveillée sous une lampe chauffante et retournée dans le nid.

Pour diminuer les risques d'infanticide causé par la manipulation des souriceaux, la mère était transférée dans une autre cage avec, au minimum, l'un de ses bébés. Les souriceaux utilisés restaient dans la cage initiale afin de conserver l'odeur de la mère et étaient transportés à la salle de chirurgie.

2.3 Extraction des protéines corticales

L'extraction des protéines corticales a été effectuée chez les souris âgées de 59-61 jours. L'âge a été choisi afin de s'assurer que les protéines corticales proviennent de souris adultes et que la période critique de plasticité soit terminée.

Au départ, les souris sont anesthésiées avec 2 mL d'isoflurane à l'intérieur d'une cloche à induction jusqu'à ce que nous n'observions plus de réflexe moteur de retrait des pattes postérieures. Lorsqu'elles ont atteint un niveau d'anesthésie chirurgicale, elles sont décapitées avec des ciseaux. Le cerveau est prélevé et déposé dans une solution de PBS 0.01 M maintenu à une température de 4°C.

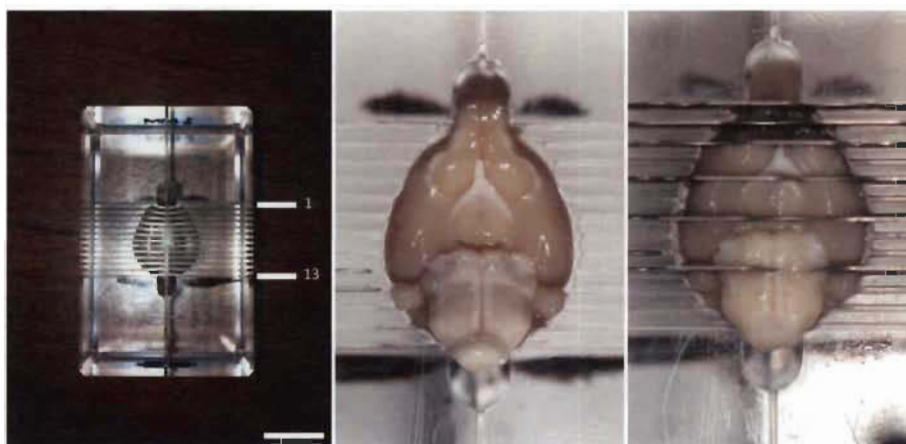


Figure 2.1 Matrice de coupe en acrylique.

La matrice est composée d'une fente longitudinale et 13 fentes coronales. Les fentes coronales sont numérotées de l'avant (bulbes olfactifs) vers l'arrière (moelle épinière). Les tranches de cerveau ont une épaisseur de 1 mm. (Échelle : 10 mm)

Par la suite, les cerveaux sont déposés à l'intérieur d'une matrice de coupe (Acrylic Brain Matrix for Adult Mouse, World Precision Instruments, Sarasota, US). Cette matrice épouse en son centre la forme d'un cerveau de souris (Figure 2.1). Sa fonction est de maintenir les cerveaux dans une position reproductible pour effectuer des tranches dans des plans coronaux standardisés. À cet effet, la matrice comporte des fentes coronales équidistantes d'un millimètre ainsi qu'une fente médiane longitudinale afin d'effectuer une coupe sagittale médiane du cerveau. La matrice est déposée sur de la

glace et le cerveau est recouvert d'une solution contenant 4 mM HEPES, 0.32 M sucrose, 1 mM Na_3VO_4 , 5 mM NaF et le mélange d'inhibiteurs de protéase (Halt™ protease inhibitor cocktail EDTA-Free, Pierce Thermofisher, Illinois, US). Pour couper les tranches, une lame de rasoir (Personna®, American Safety Razor Compagny, Verona, VA, USA) est insérée dans les fentes coronales 1, 5 à 10, 13 mm. Ensuite, les tranches de 1 millimètre sont identifiées selon leur position dans la matrice et placées sur une lame de verre. Chaque tranche est recouverte de la solution de préservation et la lame est également déposée sur la glace afin de préserver l'intégrité des protéines.

Sous une loupe, les cortex visuels (V1), auditif primaire (A1), somatosensoriel primaire (S1) et frontal (Fr) sont retirés des tranches de cerveau avec une fine lame de scalpel. La localisation des régions corticales échantillonnées est effectuée en fonction des plans stéréotaxiques d'un atlas du cerveau de la souris (Paxinos et Franklin 2001). Les plans de coupes sélectionnés pour les tranches correspondent assez fidèlement à des plans stéréotaxiques identifiables (Figure 2.1, 2.2 et 2.3). Les échantillons obtenus lors de l'extraction sont conservés individuellement à -80 °C jusqu'à l'étape d'homogénéisation.

Pour notre étude, nous avons utilisé le cortex frontal à titre de cortex contrôle afin de s'assurer que les modifications biochimiques observées dans les cortex sensoriels primaires ne sont pas causées par des troubles qui affectent le cortex cérébral en entier, comme il a déjà été utilisé par le passé (Yashiro et al. 2005; Chen et Bear 2007).

Or, le cortex frontal reçoit des afférences sensorielles des aires associatives pour intégrer l'ensemble des informations sensorielles et ainsi participer à la planification des actions à entreprendre par l'individu (Miller 1999). Cependant, le cortex frontal n'est pas un cortex sensoriel primaire puisqu'il est généralement composé des aires cognitives et motrices, notamment les cortex moteurs primaire (M1) et secondaire (M2) (Figure 2.2) (Paxinos et Franklin 2001). De ce fait, il peut être utilisé comme cortex contrôle pour nos expérimentations.

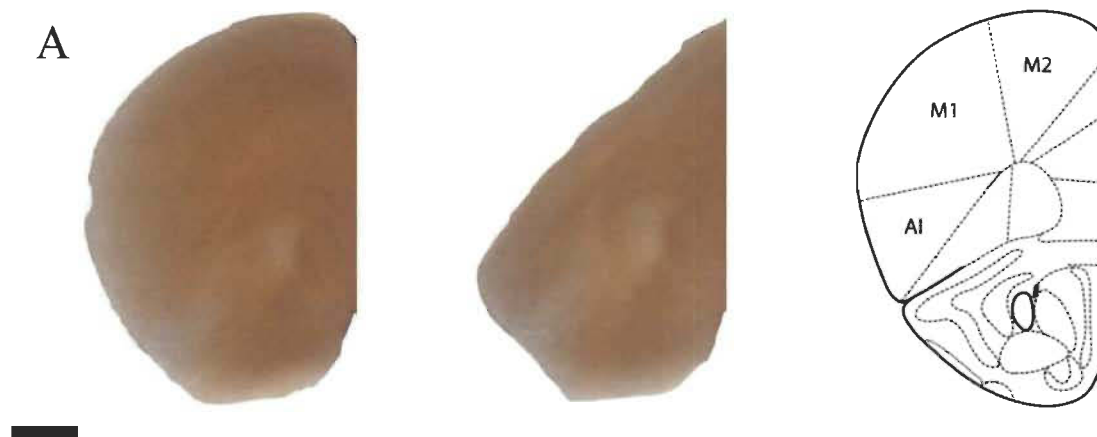


Figure 2.2 Localisation et extraction des échantillons de tissus du cortex frontal chez la souris.

Des tranches coronales de cerveau de souris sont produites pour identifier et retirer les échantillons de protéines corticales qui contiennent les aires motrices et cognitives du cortex frontal (Fr). Les différentes aires corticales sont identifiées à l'aide de l'atlas de cytoarchitecture de cerveau de souris (Paxinos et Franklin 2001) pour la tranche correspondante. En A, l'échantillon recueilli provient de la coupe 1-2 du cerveau de souris. (Échelle : 1000 μ m)

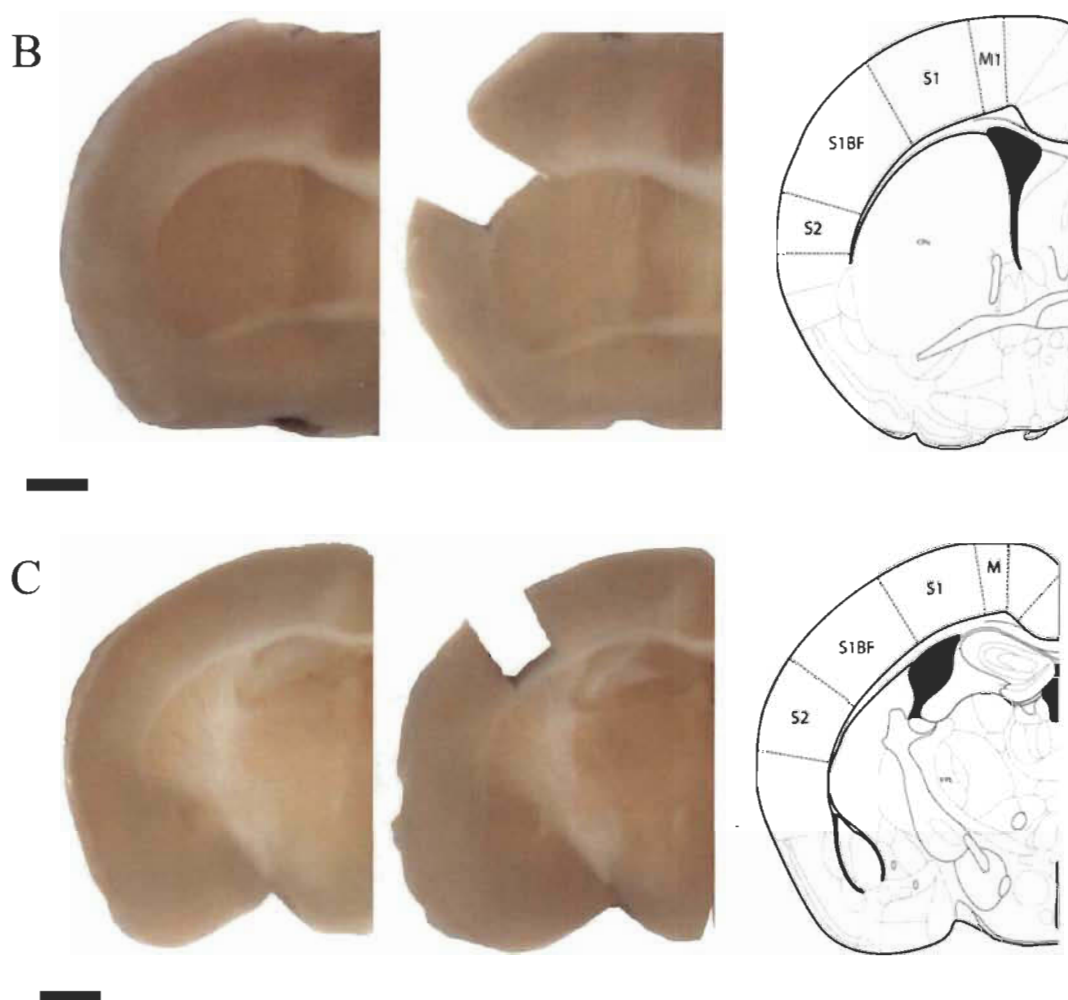


Figure 2.3 Localisation et extraction des échantillons de tissus du cortex somatosensoriel primaire chez la souris.

Des tranches coronales de cerveau de souris sont produites pour identifier et retirer les échantillons de protéines corticales qui contiennent le champ de tonneaux du cortex somatosensoriel primaire (S1BF). Les différentes aires corticales sont identifiées à l'aide de l'atlas de cytoarchitecture de cerveau de souris (Paxinos et Franklin 2001) pour la tranche correspondante. En **B**, l'échantillon recueilli provient de la coupe 4-5 du cerveau de souris. En **C**, l'échantillon recueilli provient de la coupe 6-7 du cerveau de souris. (Échelle : 1000 μm)

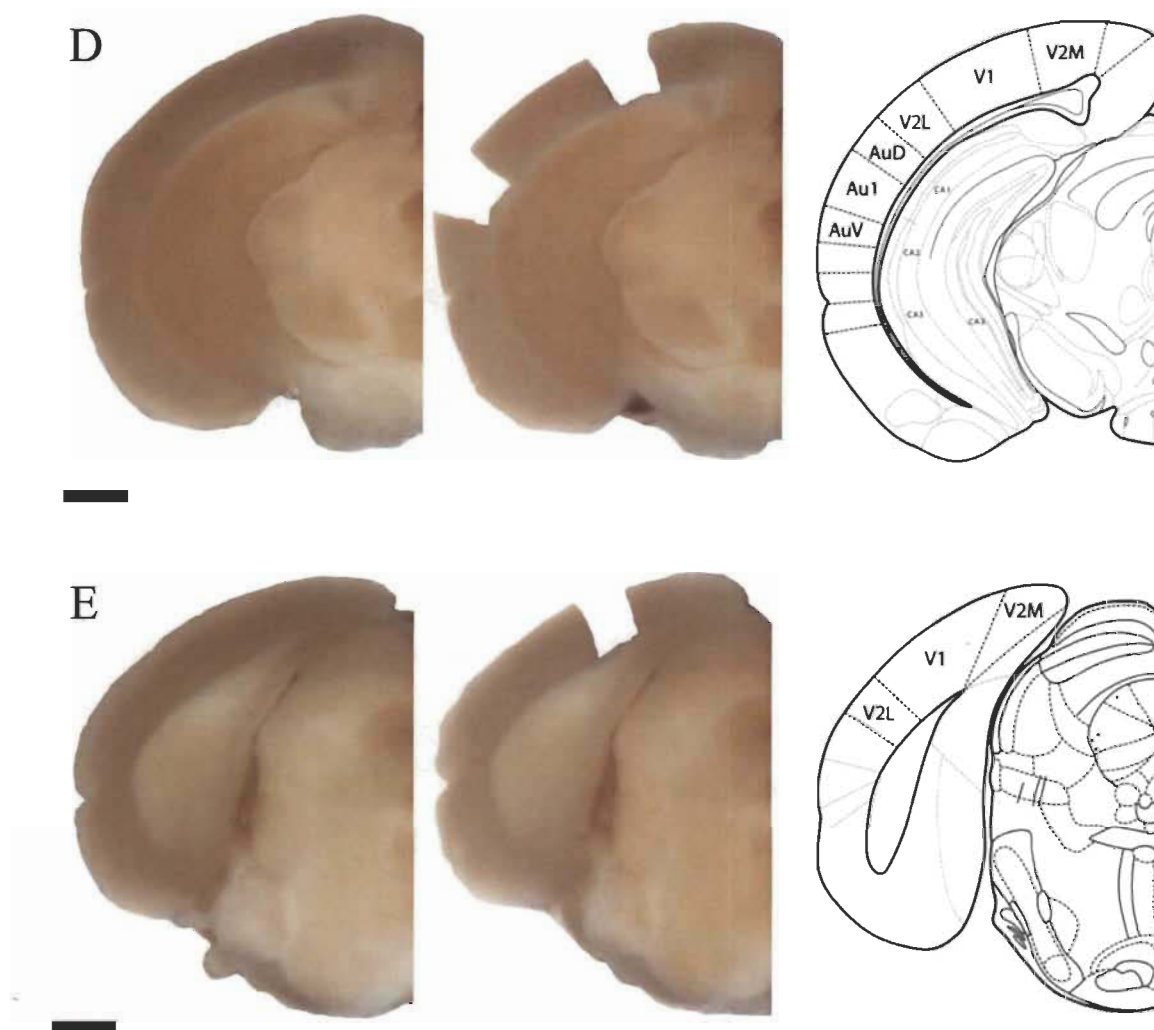


Figure 2.4 Localisation et extraction des échantillons de tissus des cortex visuel et auditif primaires chez la souris.

Des tranches coronales de cerveau de souris sont produites pour identifier et retirer les échantillons de protéines corticales qui contiennent le cortex visuel primaire (V1) et le cortex auditif primaire (A1). Les différentes aires corticales sont identifiées à l'aide de l'atlas de cytoarchitecture de cerveau de souris (Paxinos et Franklin 2001) pour la tranche correspondante. En **D**, l'échantillon recueilli provient de la coupe 8-9 du cerveau de souris. En **E**, l'échantillon recueilli provient de la coupe 9-10 du cerveau de souris. (Échelle : 1000 μm)

2.4 Homogénéisation des protéines

Les échantillons de chaque cortex (visuel, auditif, somatosensoriel et frontal) de deux souris sont combinés afin d'obtenir une quantité suffisante de protéine. 16 cerveaux de souris ont été utilisés pour produire 8 répliques différents (N=8) par modèle de privation visuelle (énucléées et anophtalmes) et modèle contrôle (voyantes). Premièrement, les échantillons de cortex sensoriels sont déposés dans des tubes contenant 500 μ L de solution de lyse (20 mM TRIS-HCl, 150 mM NaCl, 1 mM Na_3VO_4 , 1 mM NaF, 1 % Triton X-100 et le cocktail d'inhibiteurs de protéases Halt™) et homogénéisés à l'aide d'un piston motorisé (Pellet Pestle® Motor, Kimble&Kontes, New Jersey, US) pendant cinq minutes. Le Triton X-100, un détergent non-ionique, est utilisé avec la solution de lyse pour faciliter la solubilisation des membranes.

Deuxièmement, les tubes d'homogénats corticaux sont soniqués (Tabletop Ultrasonic Cleaners 1510 Brainsonic®, Branson) pendant dix minutes sur la glace. La sonication sert à dissocier les membranes et faciliter la relâche des composantes intracellulaires dans le mélange. Par la suite, les tubes sont centrifugés à 1000 x g pendant dix minutes. Cette centrifugation permet de retirer les résidus nucléaires ainsi que les structures vasculaires et conjonctives corticales de l'homogénat. Ensuite, le surnageant est prélevé et déposé dans un tube de 1.5 mL. C'est à partir de cette fraction de l'homogénat, le surnageant post-nucléaire (PNS) que le dosage des protéines corticales a été effectué.

2.5 Dosage des protéines

La concentration en protéine des PNS des cortex visuel, auditif, somatosensoriel et frontal a été déterminée afin de pouvoir effectuer les dilutions qui permettront de déposer des quantités comparables de protéines corticales dans chaque puits pour l'électrophorèse.

Pour ce faire, nous utilisons la méthode de dosage par l'acide bicinchoninique « Thermoscientific Pierce® Microplate BCA Protein assay kit - Reducing agent compatible » en suivant les recommandations du fabricant. Le kit de dosage à l'acide bicinchoninique (BCA) met en relation une réduction du Cu^{2+} en Cu^{1+} par des protéines en milieu alcalin et une détection colorimétrique précise et sensible des cations cuivrés (Cu^{1+}) par la BCA. Un composé pourpre est produit lors de la chélation de 2 molécules de BCA pour un ion Cu^{1+} . Le ratio du complexe BCA/cuivre est soluble dans l'eau et affiche une importante absorbance linéaire à 562 nm avec une augmentation graduelle de protéines.

Afin de déterminer la concentration de protéine dans les PNS, une courbe standard d'absorbance est produite avec de l'albumine de sérum bovin (BSA-*bovine serum albumin*) (Figure 2.4). Les différents volumes de BSA, dans des concentrations croissantes de 0 à 2000 $\mu\text{g/mL}$, sont déposés dans les puits d'une plaque de 96 puits.

Un volume de 9 μL de PNS des différents cortex est également déposé dans la plaque. Ensuite, 260 μL de la solution contenant la BCA est posé sur les protéines dans les puits. Par la suite, la plaque est agitée pendant une minute afin de démarrer la réaction de réduction, recouverte d'un papier d'aluminium et incubée à 37 °C pendant 30 minutes. Après, on laisse reposer la plaque cinq minutes avant de débiter la mesure de l'absorbance par le lecteur de plaque (Multiskan*EX Microplate Photometer, Thermoscientific). La concentration en protéines corticales du PNS est déterminée avec l'équation linéaire de la courbe standard où Y est l'absorbance obtenue et X représente la concentration recherchée. Ensuite, le PNS dosé est aliquoté et conservé à -80 °C.

Le volume de PNS déposé dans un aliquot doit contenir une quantité de protéines suffisante pour effectuer une seule expérimentation d'immunobuvardage. Ceci est important pour favoriser la conservation à long terme des protéines et éviter le gel et dégel des protéines entre chaque expérimentation.

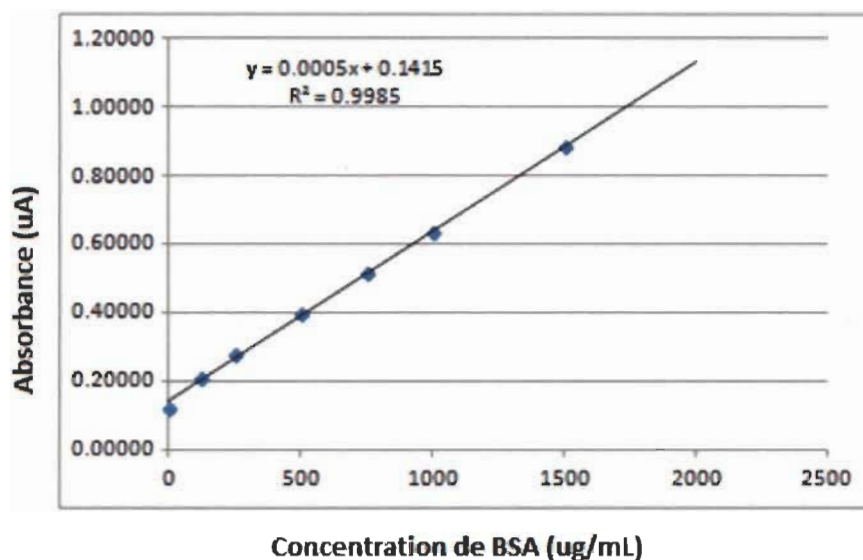


Figure 2.5 Courbe standard de BSA utilisée pour le calcul de la concentration des protéines corticales.

Représentation graphique de la courbe standard d'absorbance de la BSA. Les valeurs moyennes d'absorbance sont définies pour chaque concentration de BSA dans les puits. L'équation mathématique $Y = Ax + B$ où A est la pente de la droite et B est l'ordonnée à l'origine (0,0) permet le calcul de la concentration de chaque échantillon de protéines corticales extraites. La valeur de R^2 représente le coefficient de corrélation au carré ou le coefficient de détermination de la courbe standard.

2.6 Électrophorèse

L'électrophorèse est une méthode de purification des protéines en fonction de leur poids moléculaire, leur densité ou leur charge, par leur migration à l'intérieur d'un gel de polyacrylamide. Plusieurs éléments influencent le processus de séparation, dont la concentration de polyacrylamide, les tampons, le pH, le temps de migration et les propriétés des protéines investiguées.

Pour notre étude, les protéines ont été séparées par une électrophorèse qui utilise le dodécylsulfate de sodium (SDS-*sodium dodecyl sulfate*) à l'intérieur de gels de polyacrylamide discontinus. La concentration d'acrylamide/bisacrylamide pour le gel de compression est de 4 % et de 10 % pour le gel de résolution. Une quantité fixe de protéines corticales (5 µg) a été déposée dans chaque puits. L'application d'une différence de potentiel constante de 200 volts pendant une heure entraînera une migration des protéines en fonction de leur charge et leur poids moléculaire. Par la suite, les gels sont retirés de leur cuve de migration et déposés sur des papiers-filtres humidifiés afin d'effectuer le transfert des protéines contenues dans le gel de polyacrylamide sur une membrane de polyvinylidene fluoride (PVDF). Brièvement, les membranes sont hydratées avec du méthanol pur (MeOH) pendant 30 secondes puis déposées dans une solution de transfert pendant 15 minutes (192 mM Glycine, 25 mM TRIS-Base) pour les équilibrer. Ce procédé est essentiel puisqu'il permet aux protéines d'adhérer efficacement sur la membrane de PVDF et de résister aux différents stress chimiques.

Par la suite, les membranes sont déposées sur les gels et maintenues entre deux papiers filtres humidifiés avant d'être immergés dans un bac rempli de solution de transfert (192 mM Glycine, 25 mM TRIS-Base). Les protéines sont alors transférées du gel vers la membrane de PVDF par un voltage constant de 60 volts pour une durée de deux heures à 4 °C. Une fois le transfert complété, les membranes sont retirées et déposées dans un bac en prenant soin de mettre la face qui contient les protéines vers le haut, recouvertes d'une solution de blocage composée de 20 mL de lait sans gras 5 % dans un tampon de PBS 0.01 M-tween 0.05 % et placées à 4 °C jusqu'au lendemain. Ce blocage permet de diminuer les liaisons non spécifiques de l'anticorps sur la membrane de PVDF.

2.7 Immunobuvardage de type Western (Western Blot)

Les anticorps utilisés sur la membrane de PVDF seront dirigés contre les transporteurs vésiculaires du glutamate : VGluT1 et VGluT2 (Anticorps primaire polyclonal de lapin: Anti-VGluT1 [#135 303], Anti-VGluT2 [#135 403], Synaptic Systems), un transporteur vésiculaire du GABA (Anticorps primaire polyclonal de lapin: Anti-VGAT [#131 003] Synaptic Systems) et l' α -tubuline à titre de protéine de référence (Anticorps primaire monoclonal de souris: [#Ab7291], Abcam, Cambridge, US).

Les membranes sont incubées dans une solution d'anticorps primaire contenant 10 mL de lait sans gras 0.5 % et de PBS 0.01 M-tween 0.05 % (VGluT 1 et 2 : 1:8000; VGAT 1:2500). Le tout est agité pendant deux heures à la température ambiante. Après, la membrane est lavée pendant dix minutes avec du PBS 0.01 M-Tween 0.05 % à quatre reprises afin d'éliminer les anticorps primaires non fixés sur la membrane.

Pour la détection des anticorps anti-VGluT1, anti-VGluT2 et anti-VGAT, un anticorps secondaire polyclonal de chèvre conjugué avec une peroxydase de raifort (HRP-horseradish peroxydase) (Affinity Purified HRP Goat anti-rabbit IgG, # CLGRHRP, Cedarlane, Burlington, ON) est dirigé contre le lapin. De plus, un anticorps secondaire polyclonal d'âne conjugué avec la HRP (Peroxydase-Conjugated AffiniPure Donkey anti-mouse IgG, #715-035-150, Jackson ImmunoResearch laboratories inc., West Grove, PA) est dirigé contre l'anticorps primaire de souris fixé à l' α -tubuline. Les deux anticorps secondaires sont utilisés à des concentrations de 1 :10000.

La membrane est incubée dans une solution d'anticorps secondaire contenant 10 mL de lait sans gras 0.5 % et de PBS 0.01 M-tween 0.05 % et agitée pendant deux heures à la température ambiante. Par la suite, la membrane est lavée pendant dix minutes avec du PBS 0.01 M-Tween 0.5 % à quatre reprises pour éliminer les anticorps secondaires non fixés sur la membrane.

Afin d'utiliser une quantité optimale de protéines corticales pour nos expérimentations, nous avons effectué une mise au point pour la quantité de PNS déposée dans chaque puits ainsi que pour la concentration des anticorps spécifiques aux VGluT1, VGluT2, VGAT et α -tubuline (Figure 2.6). Le poids moléculaire des protéines est de 63 kDa, 62 kDa, 57 kDa et 50 kDa respectivement.

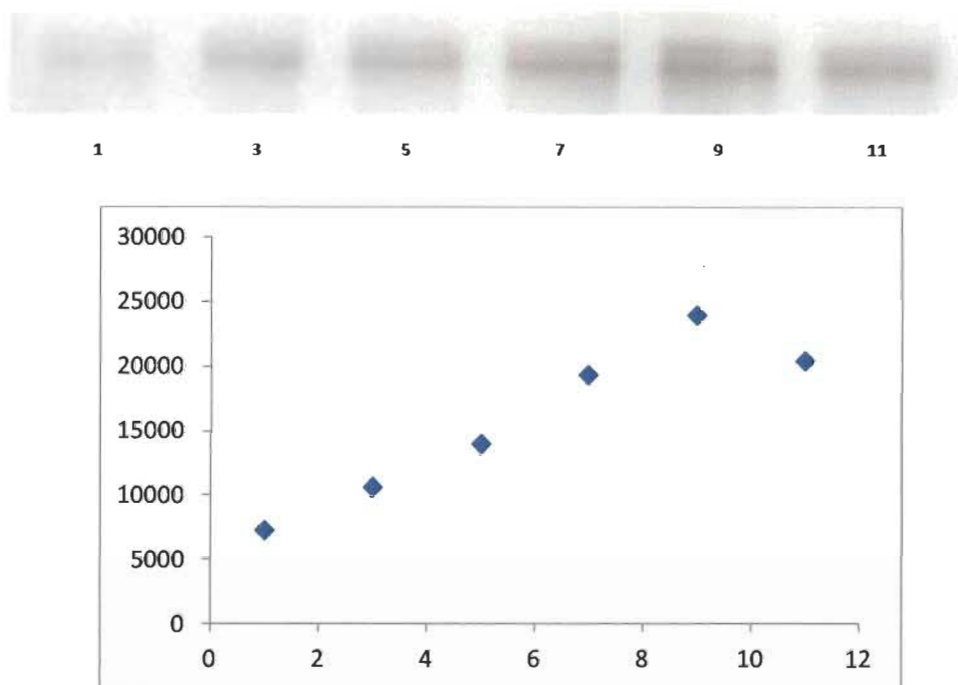


Figure 2.6 Détermination de la zone de détection linéaire dynamique. Exemple de courbe présentant le signal obtenu lors de la révélation de VGAT en fonction de la quantité de protéines chargées. Une quantité croissante de protéine (1, 3, 5, 7, 9, 11 μ g) a été chargée et la densité optique des bandes obtenues lors de la révélation par chimiluminescence a été mesurée avec le logiciel Image J. Le signal obtenu entre 3 et 9 μ g de protéines est dans la zone de réponse linéaire de l'appareil ($r^2=0,9919$).

La visualisation des protéines est effectuée à l'aide d'une méthode d'immunodétection indirecte qui amplifie la chimiluminescence produite par la réaction enzymatique de la HRP avec la solution de luminol-peroxyde. La molécule d'HRP catalyse la transformation du luminol en 3-aminophthalate qui produit une lumière de faible intensité à 428 nm. La lumière émise par les bandes de protéines spécifiques est captée à l'aide d'une caméra (ORCAII-ER camera, C4742-98-24ERG, Hamamatsu) et les images sont sauvegardées pour des analyses densitométriques ultérieures.

Brièvement, la solution de révélation (*Super Signal West Femto Chemiluminescent Substrate*, Thermofisher Pierce®) constituée de luminol, de peroxyde et d'eau déminéralisée dans un rapport 1:1:2 est déposée sur la membrane qui est incubée à la température ambiante pendant cinq minutes. Par la suite, la solution est enlevée et la membrane est placée entre deux feuilles d'acétate pour éviter que la membrane sèche lors de la prise de photos. Après la prise de photos, la membrane de PVDF est retirée des feuilles d'acétate et déposée dans un contenant rempli de PBS 0.01 M-tween 0.05 %.

2.8 Test densitométrique et ImageJ

Le programme ImageJ (National Institute of Health, USA) a été utilisé sur Microsoft Windows pour effectuer l'analyse densitométrique.

L'image de la membrane obtenue lors de la révélation des anticorps est prise en photo et transformée en une image .TIFF (*Tagged image file format*). Ce format d'image s'adapte aux différents systèmes d'imagerie en plus d'être non compressé ce qui permet de conserver toutes les informations dans une seule image.

Comme il s'agit de chimiluminescence, sur les images obtenues, les bandes de protéines sont blanches sur un fond noir. Cependant, pour favoriser l'analyse des bandes, la luminosité de la membrane est inversée afin de voir des bandes de protéines noires sur un arrière-plan blanc. Les images des membranes sont optimisées en modifiant les paramètres de la prise d'image du logiciel de la caméra (VisionWorks®LS, Image Acquisition and Analysis Software, UVP-LLC, Upland, CA, USA) comme le contraste, la luminosité et le niveau de saturation de la caméra afin d'obtenir une image claire et des bandes de protéines bien définies (voir figure 2.7). Pour se faire, un programme a été mis au point dans VisionWorks®LS qui permet de contrôler la durée d'exposition de la membrane et de choisir le moment exact de la prise de l'image. Il est important de noter que l'opacité et la forme des bandes de protéines sont les plus importantes caractéristiques pour l'analyse et la présentation des résultats. Pour notre étude, nous considérons une image valide lorsque celle-ci comporte des bandes rectangulaires

uniformes de couleurs foncées pour chaque échantillon de protéines corticales et de l'uniformité de l'arrière-plan (couleur et texture) par rapport aux bandes de protéines. Une fois l'image de la membrane optimisée, nous utilisons le programme ImageJ pour effectuer des analyses densitométriques sur les bandes de protéines dans les images .TIFF optimisées.



Figure 2.7 Exemple d'une image optimisée d'une membrane de PVDF.

L'image de la membrane est considérée optimisée selon les critères suivants : l'uniformité de l'arrière-plan (couleur et texture), la forme et la couleur de la bande de protéines. Lorsqu'il y a des défauts majeurs comme la présence d'artéfacts ou de bulles sur les protéines, l'image n'est pas utilisée pour l'analyse densitométrique. Sur cette image, l'arrière-plan et les bandes de protéines sont bien définis. De plus, il n'y a pas d'artéfacts dans les bandes de protéines. Nous pouvons donc considérer cette image de la membrane contenant les échantillons du cortex auditif primaire et l'anticorps VGluT2 comme optimisée et l'utiliser dans nos résultats.

Avec l'outil de sélection rectangulaire d'ImageJ, les bandes de protéines sont encadrées individuellement en prenant soin de sélectionner aussi des zones de haut en bas de celles-ci pour permettre la soustraction du bruit de fond de la membrane (Figure 2.8). Ensuite, le programme rend des graphiques de densité de pixels en fonction de la distance sur la zone de sélection. L'analyse est représentée sous la forme d'une courbe dont l'aire sous la courbe donne la densité optique relative totale pour la bande de protéine sélectionnée (Figure 2.9). Il est à noter que les valeurs du bruit de fond sont comptabilisées par ImageJ. Pour remédier à ce problème, une ligne à la base de la

courbe est rajoutée au graphique afin de soustraire le bruit de fond à la valeur de densité optique analysée.

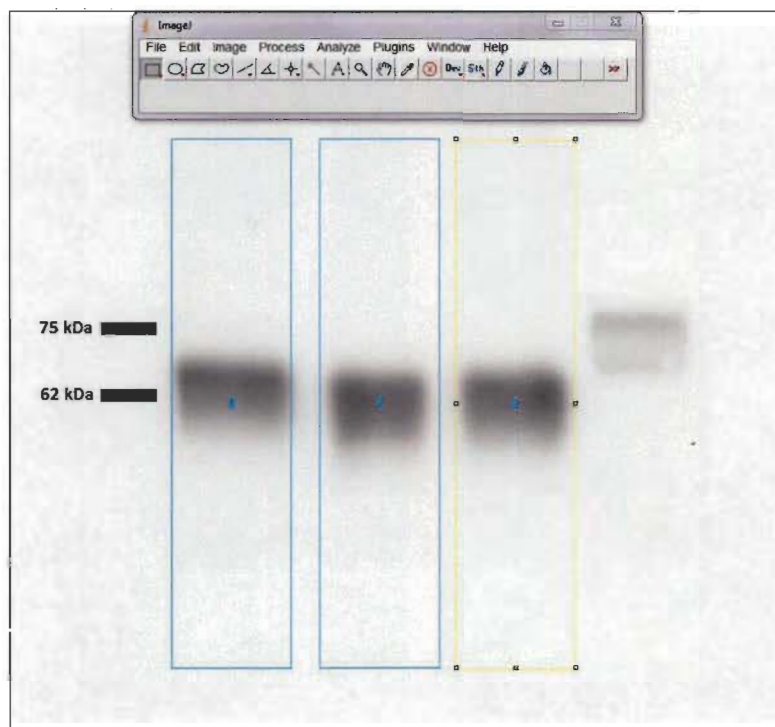


Figure 2.8 Sélection des bandes de protéines VGlut2 sur la membrane de PVDF.

Rectangle bleu : encadrement individuel de chaque bande de protéines de gauche à droite. À titre de reproductibilité, l'ordre des échantillons de protéines corticales est toujours le même : 1) PNS Contrôle, 2) PNS Énucléée, 3) PNS Anophtalme. Pour cette membrane, les anticorps anti-VGlut2 reconnaissent des épitopes dans le marqueur de poids moléculaire utilisé pour identifier nos protéines et forment une bande à 75 kDa. La bande est considérée comme un artéfact puisque les protéines de VGlut2 sont situées uniquement à 62 kDa.

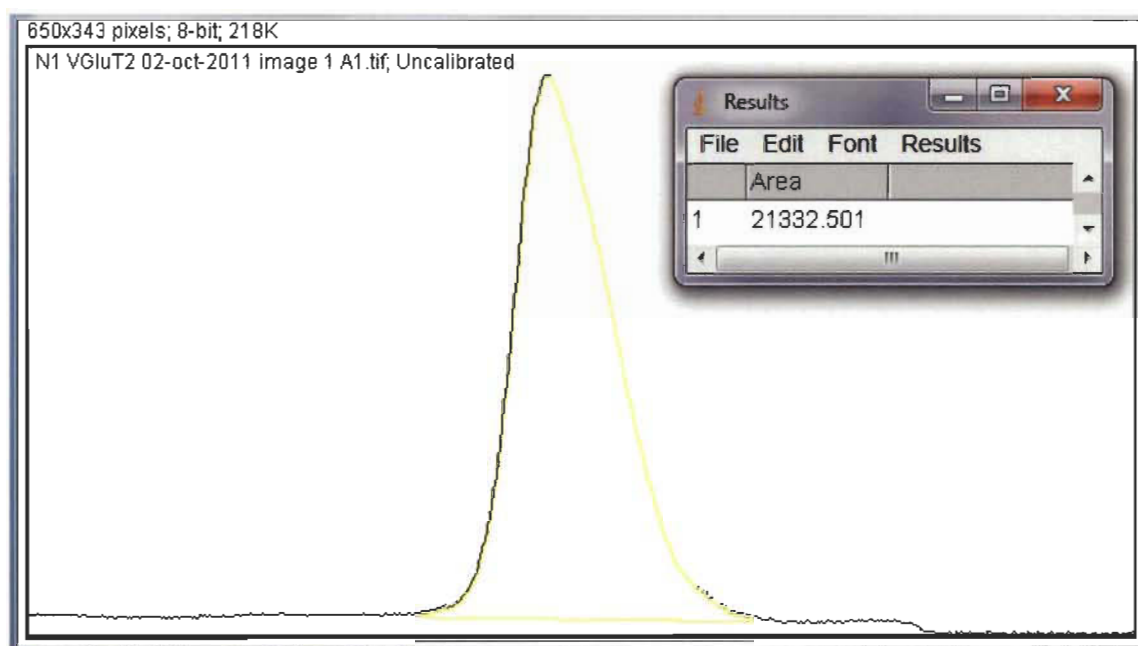


Figure 2.9 Analyse de la densité de pixels par échantillon de protéines corticales. ImageJ considère tous les pixels à l'intérieur de l'encadré et produit un profil densitométrique de la densité optique relative de la zone analysée. En ordonnée, la hauteur de la pointe représente la noirceur de la bande tandis qu'en abscisse, la largeur de la pointe correspond à l'étendue de la bande de protéines. L'aire sous la courbe (en jaune) représente la surface analysée par ImageJ. Un trait est dessiné à la base de la courbe pour éliminer les valeurs du bruit de fond de la membrane. Le résultat de l'analyse densitométrique pour la première bande de la membrane de la figure 2.8 est affiché dans l'encadré de droite.

Les mesures de la densité optique sont reprises par trois fois et la valeur moyenne est utilisée comme résultat final. Les valeurs sont ensuite compilées et soumises à un test de Kruskal-Wallis afin de détecter des différences entre les groupes expérimentaux. Nous utilisons un seuil de signification statistique fixé à 0.01 pour que nos conclusions statistiques soient établies sur des bases plus sévères que si elles étaient basées sur un seuil de 0.05.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

Au départ, nous avons analysé les niveaux d'expression de VGluT2 dans les différents cortex sensoriels primaires afin de vérifier si la privation visuelle entraînait la modification des niveaux d'activité glutamatergique thalamocorticale chez nos souris adultes aveugles précoces. Nos résultats indiquent qu'il n'y a pas de changements significatifs pour les niveaux d'expression de VGluT2 dans les cortex visuel ($P = 0.583$), auditif ($P = 0.494$) et somatosensoriel ($P = 0.908$) primaires des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes (Figure 3.1).

Pour l'analyse des niveaux d'expression de VGluT2 dans le cortex contrôle, nos résultats indiquent qu'il n'y a pas de changements significatifs ($P = 0.296$) des niveaux d'expression de VGluT2 dans le cortex frontal des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes (Figure 3.1).

Ensuite, nous avons effectué les mêmes expériences pour analyser les niveaux d'expression de VGluT1 dans les différents cortex sensoriels primaires afin de vérifier si la privation visuelle entraînerait la modification des niveaux d'activité glutamatergique corticocorticale chez nos souris adultes aveugles précoces. Nos résultats d'immunobuvardages Western indiquent qu'il n'y a pas de changements significatifs des niveaux d'expression de VGluT1 dans les cortex visuel ($P = 0.146$), auditif ($P = 0.847$) et somatosensoriel ($P = 0.43$) primaires des souris C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes (Figure 3.2).

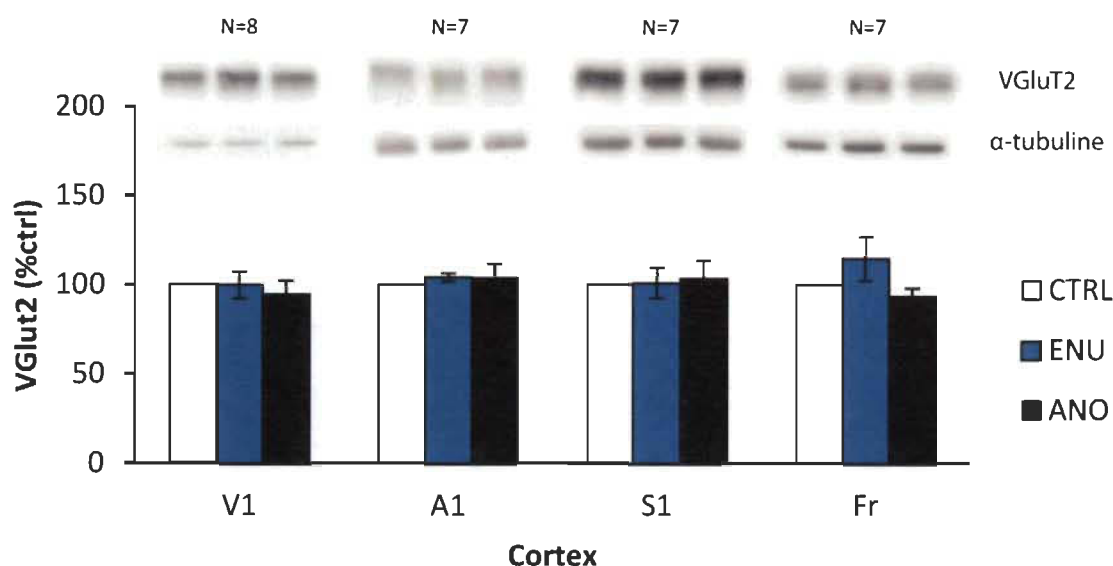


Figure 3.1 Expression de VGLUT2 dans les cortex sensoriels primaires des souris énucléées et anophtalmes.

En abscisse, les cortex visuel (V1), auditif (A1), somatosensoriel (S1) primaires et le cortex frontal (Fr). En ordonnée, l'expression de VGLUT2 en pourcentage par rapport au niveau observé chez la souris contrôle (% ctrl). Légende : Blanc - Souris voyantes contrôles; Bleu - Souris aveugles énucléées; Noir - Souris aveugles anophtalmes. Les valeurs obtenues ont toutes été normalisées en utilisant la protéine α -tubuline comme protéine de référence. Les barres d'erreur montrent l'erreur standard par rapport à la moyenne (SEM). La moyenne des résultats de sept ($n=7$) pour A1, S1 et Fr et de huit ($n=8$) répliquats pour V1 a été reportée graphiquement. Les résultats ne montrent aucune modulation significative de l'expression de VGLUT2 dans les cortex visuel ($P = 0.583$), auditif ($P = 0.494$) et somatosensoriel ($P = 0.908$) primaires des souris adultes aveugles précoces. De plus, les niveaux d'expression de VGLUT2 ne sont pas significativement modifiés dans le cortex frontal ($P = 0.296$) des souris adultes aveugles précoces suite à la perte de la vision.

Pour l'analyse des niveaux d'expression de VGLUT1 dans le cortex contrôle, nos résultats indiquent qu'il n'y a pas de changements significatifs ($P = 0.47$) des niveaux d'expression de VGLUT1 dans le cortex frontal des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes (Figure 3.2).

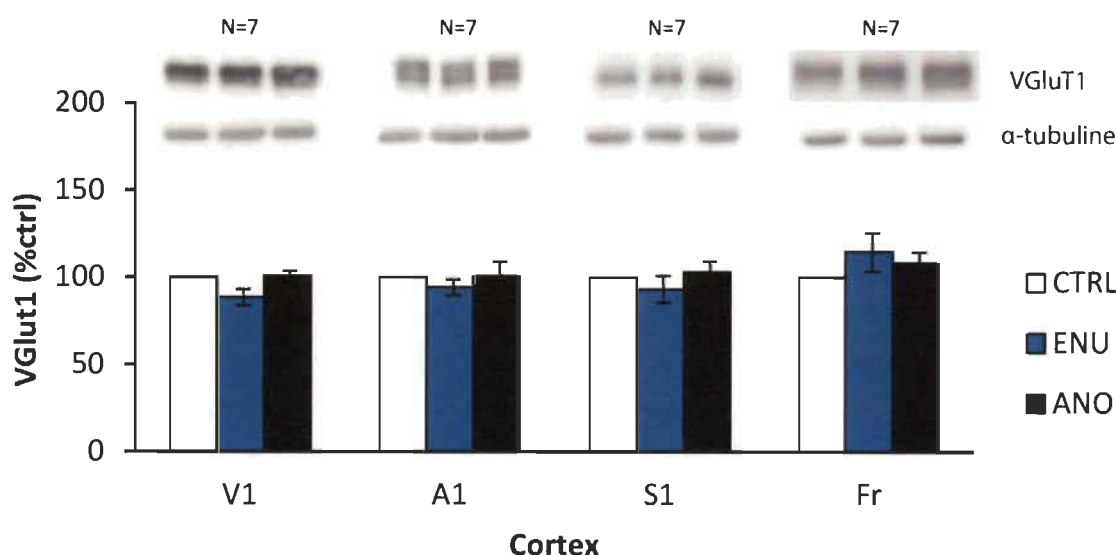


Figure 3.2 Expression de VGluT1 dans les cortex sensoriels primaires des souris énucléées et anophtalmes.

La moyenne des résultats de sept replicats ($n=7$) pour V1, A1, S1 et Fr a été reportée graphiquement. Les résultats ne montrent aucune modulation significative de l'expression de VGluT1 dans les cortex visuel ($P = 0.146$), auditif ($P = 0.847$) et somatosensoriel ($P = 0.43$) primaires des souris adultes aveugles précoces. De plus, les niveaux d'expression de VGluT1 ne sont pas significativement modifiés dans le cortex frontal ($P = 0.47$) des souris adultes aveugles précoces suite à la perte de la vision. Légende : voir la figure 3.1.

Par la suite, nous avons effectué les immunobuvardages sur les protéines VGAT des différents cortex sensoriels primaires afin de vérifier si la privation visuelle entraînait la modification des niveaux d'activité GABAergique intracorticale chez nos souris adultes aveugles précoces. Nos résultats indiquent que les niveaux d'expression de VGAT ne sont pas significativement modifiés dans les cortex visuel ($P = 0.81$), auditif ($P = 0.12$) et somatosensoriel ($P = 0.1$) primaires des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes (Figure 3.3).

Pour l'analyse des niveaux d'expression de VGAT dans le cortex contrôle, nos résultats indiquent qu'il n'y a pas de changements significatifs ($P = 0.463$) des niveaux d'expression de VGAT dans le cortex frontal des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes (Figure 3.3).

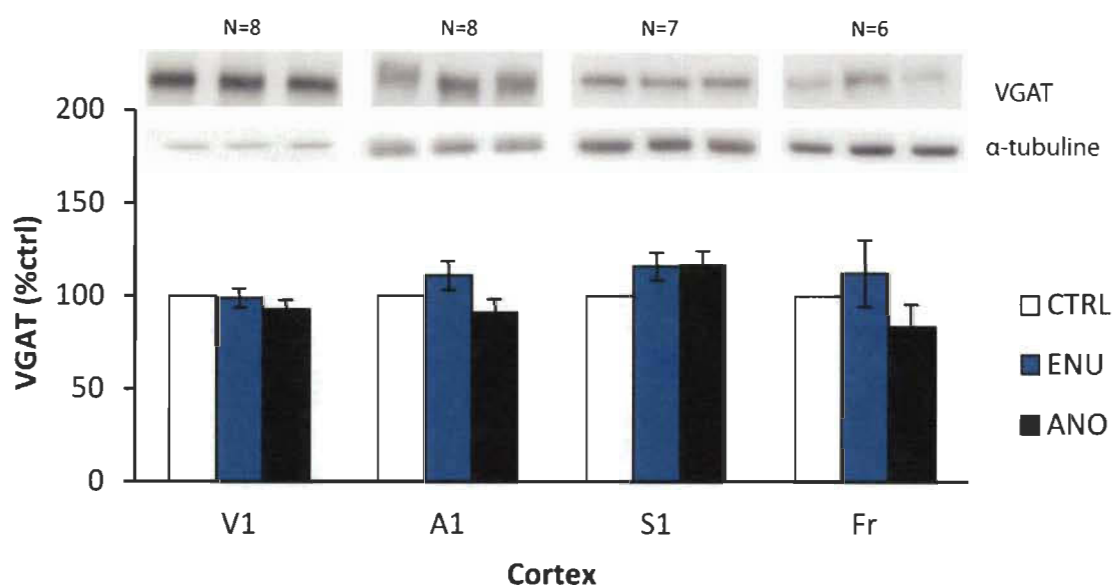


Figure 3.3 Expression de VGAT dans les cortex sensoriels primaires des souris énucléées et anophtalmes.

La moyenne des résultats de huit ($n=8$) pour V1 et A1, de sept ($n=7$) pour S1 et de six ($n=6$) répliqués pour Fr a été reportée graphiquement. Les résultats ne montrent aucune modulation significative de l'expression de VGAT dans les cortex ($P=0.81$), auditif ($P=0.12$) et somatosensoriel ($P=0.1$) primaires des souris adultes aveugles précoces. De plus, les niveaux d'expression de VGAT ne sont pas significativement modifiés dans le cortex frontal ($P=0.463$) des souris adultes aveugles précoces suite à la perte de la vision. Légende : voir la figure 3.1

CHAPITRE IV

DISCUSSION

Au laboratoire de neuroanatomie fonctionnelle, l'objectif général est l'étude des effets de la privation visuelle sur les différentes modalités sensorielles. Plus précisément, nous étudions les modifications anatomiques, physiologiques et biochimiques produites par une diminution importante de l'activité visuelle afférente sur les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires de modèles animaux.

Nous avons effectué des immunobuvardages de type Western sur des échantillons PNS de protéines corticales afin de déterminer si la privation visuelle entraînait la modification des niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans le cortex frontal et les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes aveugles précoces. Nos résultats montrent qu'il n'y a aucune modulation significative des niveaux d'expression de VGluT1, VGluT2 et VGAT dans ces cortex sensoriels primaires et le cortex frontal chez nos souris adultes C57Bl/6 énucléées bilatéralement et ZRDCT anophtalmes.

4.1 Considérations générales

Généralement, les expérimentations sur nos modèles animaux débutaient tôt le matin et nous avons sacrifié les souris entre 10 h et 13 h environ. Du coup, certaines souris ont été sacrifiées plus tôt et d'autres plus tard, suggérant ainsi la possibilité que l'heure à laquelle les souris ont été sacrifiées puisse avoir un effet sur nos résultats. Il est à noter que nos souris voyantes et aveugles ont été euthanasiées au hasard à titre de reproductibilité et pour ne pas favoriser certaines souches animales.

On peut s'attendre que l'exposition à la lumière durant le jour affecte davantage les souris voyantes que les souris aveugles puisque les souris voyantes vont recevoir de l'activité visuelle afférente dans le cortex visuel primaire tandis que les souris aveugles n'en recevront pas. De ce fait, les afférences visuelles entraîneraient probablement une augmentation des niveaux d'expression de VGluT2 dans le cortex visuel primaire des souris voyantes, considérant que les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires dépendent de l'activité neuronale (Daniels et al. 2006; Daniels et al. 2011).

Pour contrôler ce facteur, nous avons utilisé les valeurs uniques de densité optique des niveaux d'expression de VGluT2 des souris énucléées comme nouveau modèle contrôle. Nous avons refait l'intégralité des calculs en utilisant les valeurs de densité optique spécifiques de chaque réplique afin de produire de nouvelles moyennes pour vérifier s'il y a une modification significative des niveaux d'expression de VGluT2 dans nos échantillons de cortex sensoriels primaires. Les résultats démontrent qu'il n'y a aucun changement significatif des niveaux d'expression de VGluT2 lorsque nous utilisons les souris énucléées comme contrôles (Figure 4.1A). Aussi, nous avons fait les mêmes analyses avec les souris anophtalmes comme modèle contrôle pour vérifier si la souche affectait nos résultats et n'avons obtenu aucune modification significative des niveaux d'expression de VGluT2 entre les différents modèles animaux (Figure 4.1B).

En somme, nous pouvons donc considérer les souris voyantes comme des contrôles valables pour notre étude et ainsi prétendre que nos analyses ne sont pas biaisées par l'effet de quelques heures d'activité visuelle sur les cortex sensoriels primaires de nos souris contrôles lors des expérimentations.

Ensuite, nous avons vérifié si notre contrôle cortical, les protéines du cortex frontal (Fr), était modifié suite à la perte de la vision. Nos résultats montrent qu'il n'y a pas de changements significatifs dans les niveaux d'expression de VGluT1, VGluT2 et VGAT dans le cortex frontal de nos souris adultes aveugles, ce qui concorde avec les résultats d'une étude similaire sur la modification biochimique des protéines postsynaptiques chez des rats élevés à l'obscurité (Yashiro et al. 2005). Nous pouvons donc conclure que

nos résultats sont spécifiques aux cortex sensoriels primaires et non la conséquence de troubles affectant le cortex cérébral en entier.

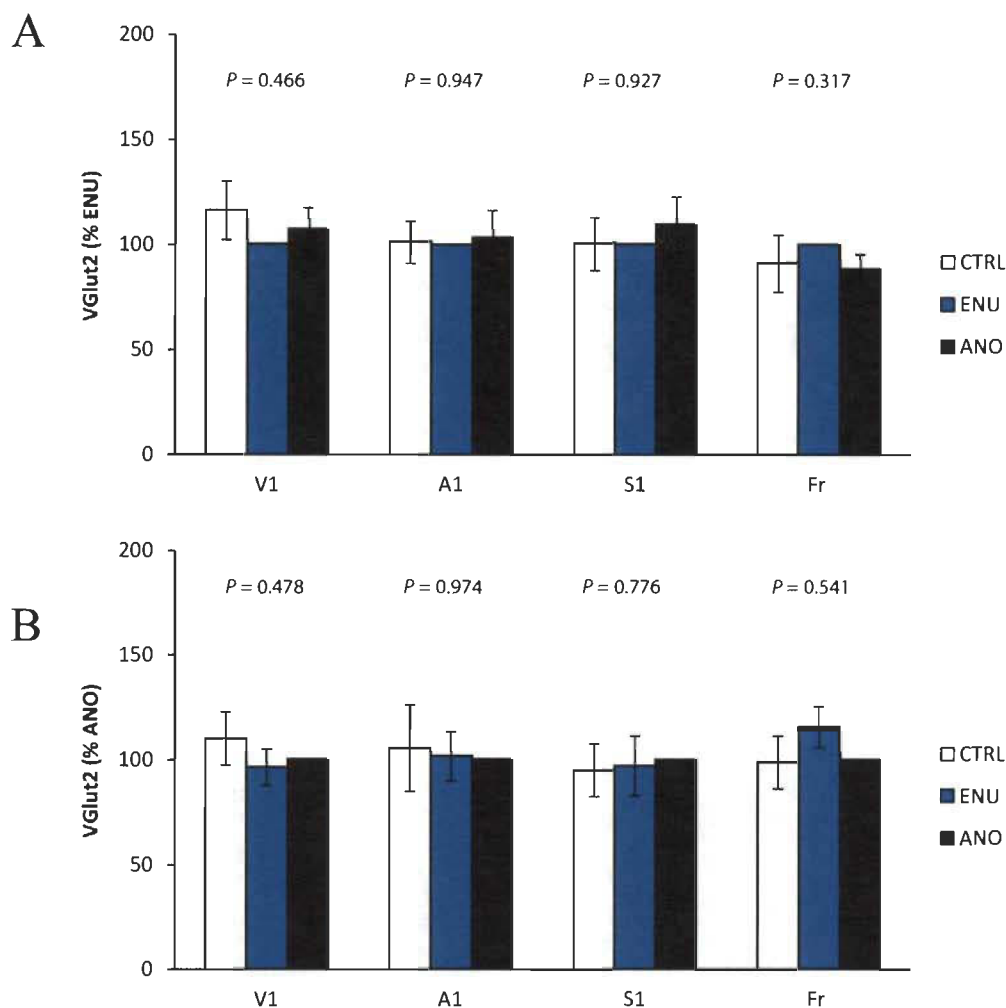


Figure 4.1 Expression des VGluT2 dans les différents cortex sensoriels primaires en utilisant les souris adultes énucléées et anophtalmes comme modèle de souris contrôle.

Histogramme **A** : En abscisse, les cortex visuel (V1), auditif (A1), somatosensoriel (S1) primaires et le cortex frontal (Fr). En ordonnée, niveaux d'expression de VGluT2 en pourcentage par rapport au niveau observé chez la souris énucléée (%ENU). Histogramme **B** : En abscisse, les cortex visuel (V1), auditif (A1), somatosensoriel (S1) primaires et le cortex frontal (Fr). En ordonnée, niveaux d'expression de VGluT2 en pourcentage par rapport au niveau observé chez la souris anophtalme (%ANO). Il n'y a aucune différence significative des niveaux d'expression de VGluT2 entre les différents modèles animaux en utilisant les souris énucléées ou anophtalmes comme modèle de souris contrôle. Légende : voir Figure 3.1.

Outre ces considérations, certaines particularités des neurones du cerveau pourraient également avoir un impact sur les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires du glutamate, notamment par la co-localisation des VGluTs dans les neurones non-glutamatergiques.

Nous avons mentionné auparavant que VGluT3 se co-localise dans les neurones non-glutamatergiques (sérotoninergiques et acétylcholinergiques) (Schafer et al. 1998; Gras et al. 2002; Gras et al. 2008; Amilhon et al. 2010; El Mestikawy et al. 2011). Or, une accumulation d'évidences montre que les transporteurs vésiculaires VGluT1 et VGluT2 puissent être également co-localisés dans certains neurones non-glutamatergiques du cerveau (El Mestikawy et al. 2011). Par exemple, il a été démontré que VGluT1 est co-exprimé avec VGAT dans les neurones GABAergiques du cortex cérébral de rats adultes (Fattorini et al. 2009) et dans certaines cellules bipolaires de la rétine de chats (Kao et al. 2004). De plus, il a été démontré que VGluT2 est co-localisé dans la grande majorité des neurones GABAergiques du noyau périventriculaire antéroventral de l'hypothalamus (Ottem et al. 2004) et dans une population de terminaisons présynaptiques du gyrus dentelé (Boulland et al. 2009). Aussi, il a été démontré que certains neurones noradrénergiques (Kawano et al. 2006) et dopaminergiques (Dal et al. 2008; Descarries et al. 2008; Mendez et al. 2008; Fortin et al. 2012) sont en mesure d'exprimer VGluT2 en plus de leurs transporteurs vésiculaires spécifiques. Une autre étude a démontré une co-localisation de VGluT1 et VGluT2 dans les motoneurones acétylcholinergiques de la moelle épinière de rats (Herzog et al. 2004). Toutefois, la co-localisation des transporteurs vésiculaires du glutamate dans les neurones non-glutamatergiques ne devrait pas modifier les résultats de notre recherche puisque celle-ci implique des terminaisons présynaptiques principalement sous-corticales que nous n'avons pas utilisées dans notre échantillonnage.

De plus, il est nécessaire de mentionner que certaines études sur le développement du cortex cérébral ont démontré une co-localisation entre VGluT1 et VGluT2 dans le cortex préfrontal de souris jeunes (P0-P22) et adultes (12 semaines) (Nakamura et al. 2005) et dans les cortex somatosensoriel et visuel primaires de jeunes souris (P7-P10)

(Nakamura et al. 2007). Les évidences d'une co-localisation des VGluT1 et VGluT2 dans les terminaisons présynaptiques des neurones des cortex sensoriels primaires sont intéressants puisque, selon les auteurs, celle-ci serait présente lorsque la plasticité synaptique est initiée durant le développement cortical. Comme la perte de la vision ou la privation visuelle favorise les mécanismes de plasticité synaptique, il est possible que les niveaux d'expression de VGluT1 et VGluT2 aient été modifiés par la co-localisation des transporteurs vésiculaires du glutamate lors du développement cortical de nos souris aveugles précoces. Or, nos résultats indiquent clairement qu'il n'y a aucune modification significative entre les niveaux d'expression de VGluT1 et VGluT2 des souris adultes voyantes et ceux des souris adultes aveugles. De ce fait, la présence d'une co-localisation des VGluTs dans les terminaisons présynaptiques des neurones corticaux n'interfère probablement pas avec nos résultats d'analyse et n'est possiblement pas modifiée lors d'une privation visuelle permanente.

Ceci étant dit, d'autres composantes du système nerveux central pourraient être en mesure de modifier nos résultats puisqu'il a été démontré par immunomarquage et RT-PCR sur cellule unique que certaines cellules gliales, notamment les astrocytes, expriment les 3 transporteurs vésiculaires du glutamate lorsqu'ils sont prélevés directement *in vivo* ou en culture (Morimoto et al. 2003; Zhang et al. 2004; Montana et al. 2004; Bezzi et al. 2004). Ces observations suggèrent alors que les astrocytes sont aptes à relâcher du glutamate dans la fente synaptique (Montana et al. 2004). Or, nous pouvons supposer que les astrocytes du cortex cérébral peuvent modifier à la hausse ou à la baisse les niveaux d'expression des VGluTs selon l'activité synaptique des neurones avoisinants. Conséquemment, nous aurions pu rectifier nos hypothèses en considérant cette particularité des astrocytes. Cependant, les échantillons de cortex sensoriel que nous avons utilisé pour nos souris adultes voyantes et aveugles précoces contiennent à la fois les neurones et les cellules gliales du cortex sensoriel isolé, réduisant ainsi l'impact des VGluTs présents dans les terminaisons synaptiques des astrocytes. Puisque nos résultats ne montrent aucune modification significative des niveaux d'expression des transporteurs glutamatergiques dans les différents cortex sensoriels primaires de nos modèles animaux, il est peu probable que l'expression des VGluTs dans les cellules

gliales soit directement impliquée dans les modifications biochimiques des terminaisons présynaptiques neuronales lors d'une privation visuelle permanente.

4.2 Modifications des connexions synaptiques dans le cortex visuel primaire

Nous avons comme premier objectif de quantifier les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans le cortex visuel primaire de souris adultes aveugles précoces. Nos résultats démontrent que l'expression de VGluT1, VGluT2 et VGAT n'est pas significativement modifiée dans le cortex visuel primaire des souris C57Bl/6 énucléées et ZRDCT/An adultes comparativement aux souris C57Bl voyantes.

4.2.1 VGluT2

Il était attendu que, suite à une privation visuelle, la diminution des niveaux d'activité visuelle afférente dans les connexions glutamatergiques thalamocorticales provoque une diminution des niveaux d'expression de VGluT2 dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes, mais de moindre envergure chez les souris ZRDCT anophtalmes. Toutefois, nos résultats montrent que les niveaux d'expression de VGluT2 demeurent inchangés dans le cortex visuel primaire de nos deux modèles animaux de cécité précoce.

Auparavant, nous avons mentionné qu'il y avait des connexions glutamatergiques thalamocorticales entre le cortex visuel primaire et les noyaux thalamiques LP (Godement et al. 1979; Dursteler et al. 1979; Kaiserman-Abramof et al. 1980; Garrett et al. 1992; Charbonneau et al. 2012), LD (Dursteler et al. 1979; Garrett et al. 1992; Karlen et al. 2006; Campi et al. 2010; Charbonneau et al. 2012) et AM (Rieck et Carey 1985; Charbonneau et al. 2012) et qu'une étude avait démontré que ces connexions étaient plus importantes chez la souris anophtalme que la souris voyante (Charbonneau et al. 2012). Or, les résultats de ces études corroborent avec notre hypothèse de départ qui suppose que les niveaux d'expression de VGluT2 ne soient pas ou peu modifiés dans le cortex visuel primaire des souris adultes ZRDCT anophtalmes.

De plus, une étude avait mis en évidence une connexion thalamocorticale directe entre les collicules inférieurs (CI) et le cortex visuel primaire chez les souris ZRDCT anophtalmes (Laemle et al. 2006) qui aurait pu expliquer l'absence de modifications des niveaux d'expression de VGluT2 dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes anophtalmes. Toutefois, ces expérimentations ont été contestées et contredites par une étude dans notre laboratoire qui montre clairement qu'il n'y a aucune connexion thalamocorticale directe entre les CI et le cortex visuel primaire des souris ZRDCT anophtalmes (Chabot et al. 2008).

Bien qu'il n'y ait pas de connexions thalamocorticales directes entre le cortex visuel primaire et les autres modalités sensorielles (Charbonneau et al. 2012), certaines études ont démontré la présence de nouvelles projections sous-corticales entre les collicules inférieurs et le CGLd chez des animaux aveugles précoces comme le rat taupe (Doron et Wollberg 1994; Kudo et al. 1997), ce qui pourrait également expliquer l'absence de modification des niveaux d'activité dans le cortex visuel de nos souris aveugles. D'ailleurs, d'autres études ont démontré que le CGLd est activé lors de stimuli auditifs chez le rat taupe (Bronchti et al. 1989; Heil et al. 1991). Il est donc possible que les neurones du collicule inférieur, qui sont normalement situés entre les noyaux cochléaires du tronc cérébral et le thalamus auditif, projettent également vers le thalamus visuel et permettraient l'entrée d'afférences auditives dans le cortex visuel primaire des souris aveugles précoces.

Or, certaines études ont confirmé cette hypothèse puisqu'ils ont mis en évidence des connexions sous-corticales entre le CGLd et le CI qui sont capables d'activer le cortex visuel primaire par des stimuli auditifs chez des hamsters énucléés à la naissance (Izraeli et al. 2002) et chez la souris ZRDCT anophtalme (Piché et al. 2004). Ces connexions sous-corticales pourraient alors expliquer l'absence de modifications de l'expression de VGluT2 dans le cortex visuel primaire de nos souris ZRDCT anophtalmes puisqu'elle permettrait le transport d'activité excitatrice auditive qui proviendrait du CI vers le cortex visuel primaire en passant par le CGLd. Du coup, il est possible que l'activité auditive transmise par le CGLd favorise le maintien des niveaux

d'expression de VGluT2 dans les connexions glutamatergiques thalamocorticales du cortex visuel primaire des souris adultes ZRDCT anophtalmes, appuyant ainsi nos résultats pour les niveaux d'expression de VGluT2 chez la souris adulte ZRDCT anophtalme.

Toutefois, l'activité intermodale transmise par cette connexion entre le CI et le CGLd ne parvient pas à expliquer les résultats obtenus chez la souris adulte C57Bl/6 énucléée bilatéralement. Il était attendu à ce que les niveaux d'expression de VGluT2 soient diminués dans le cortex visuel primaire des souris C57Bl/6 énucléées, considérant l'absence d'activation intermodale du cortex visuel primaire lors de stimuli auditifs chez les souris C57Bl/6 énucléées comparativement aux souris ZRDCT anophtalmes (Chabot et al. 2007). En effet, l'étude ne montre pas une augmentation des niveaux d'expression de la protéine c-fos dans le cortex visuel primaire de souris voyantes et énucléées bilatéralement lorsque celles-ci sont exposées à des stimuli auditifs (Figure 1.3). Les résultats indiquent plutôt que l'activation intermodale du cortex visuel primaire est présente uniquement chez les souris anophtalmes congénitales (Chabot et al. 2007). De ce fait, on pourrait probablement conclure que l'impact des nouvelles connexions sous-corticales entre le CI et le CGLd sur les niveaux d'activité glutamatergique thalamocorticale ne soit pas assez important pour induire des changements significatifs ou détectables sur les niveaux d'expression de VGluT2 dans le cortex visuel primaire des souris C57Bl/6 énucléées dans nos conditions expérimentales. Également, il se peut que la connexion sous-corticale entre le CI et le CGLd ne soit pas fonctionnelle chez les souris C57Bl/6 énucléées ou voyantes, empêchant ainsi le transport adéquat de l'activité excitatrice auditive vers le CGLd et le cortex visuel primaire par les connexions glutamatergiques thalamocorticales.

L'étude de Chabot et collègues ne montre aucune modification de l'expression de la protéine c-fos dans le cortex visuel primaire des souris C57Bl/6 énucléées. Cependant, un très faible niveau d'expression de la protéine c-fos ne signifie pas automatiquement qu'il n'y a pas d'activité auditive dans le cortex visuel primaire des souris adultes C57Bl/6 énucléées. Pour valider leurs résultats et les nôtres, il serait pertinent d'effectuer une analyse des niveaux d'expression de l'ARN messager de la protéine c-

fos dans le cortex visuel primaire chez des souris voyantes, énucléées et anophtalmes pour ainsi quantifier précisément les niveaux d'activité des neurones du cortex visuel primaire suite à des stimuli auditifs.

Une autre explication du maintien des niveaux d'expression de VGluT2 pourrait venir de l'absence d'une activité organisée dans le cortex visuel primaire des souris adultes aveugles précoces qui empêcherait l'élimination sélective des synapses thalamocorticales lors du développement cortical normal. Normalement, le développement du cerveau consiste en la croissance d'axones, de synapses et de dendrites, déclenché par la synaptogenèse. Or, il a été démontré chez les humains que la densité synaptique du cortex visuel atteint un maximum avoisinant les 150 % des niveaux adultes pendant les 4 à 12 mois après la naissance par la synaptogenèse, pour ensuite diminuer graduellement vers les niveaux adultes normaux au alentour de la cinquième année de vie par des mécanismes de révision synaptique, de régression synaptique ou de *pruning* (Johnson 1997). Bien que l'absence d'activité rétinienne n'affecte pas le plan ou l'ampleur de la synaptogenèse (Winfield 1981; Bourgeois et Rakic 1996), des évidences montrent que la révision synaptique dans le cortex visuel dépendrait de l'expérience visuelle (Stryker et Harris 1986; Bourgeois et al. 1989).

Cependant, la privation visuelle semble interrompre les mécanismes de régression synaptique, favorisant ainsi le maintien d'une densité synaptique élevée dans le cortex visuel primaire de sujets adultes aveugles précoces (Jiang et al. 2009). De ce fait, bien que l'activité thalamocorticale afférente soit diminuée, les niveaux d'expression de VGluT2 pourraient être maintenus par un grand nombre de synapses non-éliminées par les mécanismes de régression synaptique. Cette hypothèse concorderait avec deux études d'imagerie fonctionnelle qui montrent une augmentation du débit sanguin et du métabolisme du glucose dans le cortex visuel primaire de sujets adultes aveugles précoces, suggérant que les résultats proviendraient de l'absence d'une élimination sélective des synapses par les mécanismes de révision synaptique pendant le développement cortical visuel (Wanet-Defalque et al. 1988; Veraart et al. 1990). Il faudrait alors vérifier la densité des puncta VGluT2-positif et l'intensité de ces puncta

dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes pour voir s'il y a effectivement une surpopulation de synapses chez les aveugles précoces et ainsi confirmer nos résultats.

4.2.2 VGluT1

Il était aussi attendu que l'expression de VGluT1 soit augmentée dans le cortex visuel primaire de nos souris aveugles, considérant la prise en charge du cortex visuel primaire par les autres modalités sensorielles intactes (Sadato et al. 1996; Cohen et al. 1997; Renier et al. 2013). Nos résultats montrent que les niveaux d'expression de VGluT1 ne sont pas significativement modifiés dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes aveugles précoces.

L'activation du cortex visuel primaire par des stimuli non-visuels peut être induite par des changements dans les connexions corticocorticales entre le cortex visuel primaire et les cortex associatifs multimodaux lors de la privation visuelle. En effet, les cortex associatifs auraient comme fonction de moduler la réponse neuronale sensorielle par une activité des connexions corticocorticales *feedback* (Bullier et al. 2001; Pascual-Leone et Walsh 2001). Par exemple, les cortex associatifs pariétal, frontal et temporal, où l'intégration de l'activité multimodale est effectuée, utilisent les connexions corticocorticales *feedback* qu'ils entretiennent avec le cortex visuel primaire pour amplifier l'activité hétéromodale afférente lors d'une perte de vision (Macaluso et Driver 2003; Macaluso et Driver 2005; Driver et Noesselt 2008). De ce fait, le cortex visuel primaire serait en mesure de participer à l'intégration de stimuli non-visuels suite au renforcement spécifique de ces connexions corticocorticales (Weeks et al. 2000). Ces processus sont également présents dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires puisqu'ils possèdent des connexions corticocorticales avec les cortex associatifs multimodaux (Cappe et Barone 2005; Cappe et al. 2009; Cappe et al. 2012). D'ailleurs, une étude a montré des connexions corticocorticales entre le cortex associatif pariétal et les aires visuelles chez un sujet sourd lorsqu'il portait son attention sur le champ visuel périphérique (Bavelier et al. 2000).

Cependant, il a été démontré qu'il n'y a pas ou peu de modifications dans les connexions corticocorticales du cortex visuel primaire chez des sujets aveugles précoces (Larsen et al. 2009; Charbonneau et al. 2012). Donc, on pourrait s'attendre à ce que la densité des boutons présynaptiques soit modifiée dans le cortex visuel primaire au lieu de la densité des connexions corticocorticales pour expliquer le maintien des niveaux d'expression de VGluT1 chez nos souris adultes aveugles précoces.

Nous avons mentionné auparavant que des études ont montré une diminution de la densité d'épines dendritiques dans le cortex visuel primaire de modèles animaux privés visuellement (Globus et Scheibel 1967; Valverde 1967; Ryugo et al. 1975b). De plus, il a été démontré lors d'études sur les modifications biochimiques des synapses que la réduction de certaines composantes postsynaptiques, comme l'internalisation de récepteurs AMPA (Ripley et al. 2011) ou lors de l'inhibition de la synthèse de protéines synaptiques (McCann et al. 2007) entraîne une diminution du nombre de boutons présynaptiques. Donc, il est possible que la densité des boutons présynaptiques puisse être également diminuée dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes aveugles précoces.

Or, une étude a montré qu'il y avait une diminution de la densité d'épines dendritiques dans le cortex auditif de sujet schizophrène (Sweet et al. 2009), suggérant ainsi que la densité des composantes postsynaptiques glutamatergiques est réduite dans ce cortex (Moyer et al. 2013). Donc, on pourrait s'attendre à ce que la diminution de la densité d'épines dendritiques dans la schizophrénie entraîne une réduction simultanée de la densité des boutons glutamatergiques présynaptiques dans le cortex auditif. Nous n'avons pas étudié la densité des épines dendritiques ou des boutons présynaptiques dans notre étude. Cependant, il est possible d'établir un lien entre les résultats des études sur la schizophrénie et celles qui montrent une diminution du nombre d'épines dendritiques dans le cortex visuel primaire suite à la privation visuelle (Valverde 1967; Globus et Scheibel 1967; Ryugo et al. 1975b). De ce fait, il est fort probable que la densité de boutons glutamatergiques présynaptiques dans le cortex visuel primaire soit également diminuée.

Toutefois, l'étude sur les sujets schizophrènes révèle que, non seulement le nombre de boutons présynaptiques n'est pas modifié malgré la perte d'épines dendritiques, mais aussi que les niveaux d'expression de certains marqueurs présynaptiques, VGluT1 et VGluT2, ne sont pas altérés à l'intérieur des vésicules synaptiques (Moyer et al. 2013). Ces résultats concordent avec les nôtres puisque nous n'avons pas observé de modification de l'expression de VGluT1 et VGluT2 dans le cortex visuel primaire de souris aveugles.

Pour expliquer leurs résultats, les auteurs suggèrent que les boutons présynaptiques effectuent des connexions avec le corps de la dendrite du neurone postsynaptique au lieu de l'épine, considérant la tendance des boutons synaptiques à se résorber en l'absence de connexion synaptique stable avec l'épine dendritique (De Paola et al. 2006). De ce fait, l'étude de la densité des puncta VGluT1- et VGluT2-positif et l'intensité de ces puncta dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes deviendrait encore plus importante pour vérifier ce qui se produit aux connexions synaptiques corticocorticales et thalamocorticales dans le cortex visuel primaire de sujets aveugles précoces.

4.2.3 VGAT

L'inhibition GABAergique joue un rôle important dans le maintien d'un niveau équilibré d'activité corticale, à défaut de quoi la force excitatrice synaptique pourrait devenir trop importante par rapport au niveau d'activité normal dans le milieu et altérer le ratio signal-bruit cortical (Douglas et al. 1995; Douglas et Martin 2007b). Le ratio signal-bruit est décrit comme le rapport entre l'activité neuronale thalamocorticale afférente sur l'activité neuronale produite par les décharges spontanées des neurones glutamatergiques au repos (Douglas et al. 1995). Dans la neurotransmission, un signal de faible intensité est difficile à détecter tandis qu'un signal de forte intensité est transmis plus facilement dans le cortex cérébral (Douglas et al. 1995; Murphy et Miller 2009).

En temps normal, l'équilibre excitation-inhibition est maintenu par des mécanismes d'homéostasie synaptique qui modulent diverses propriétés de la synapse, notamment la force présynaptique et postsynaptique (Miller 1996; Turrigiano et Nelson 1998). Lorsque l'équilibre excitation-inhibition cortical est bouleversé, les mécanismes d'homéostasie synaptique entraîneraient des changements pré- et postsynaptiques, comme il a été observé suite à la privation visuelle (Yashiro et al. 2005; Goel et al. 2006).

Comme la privation visuelle induit une diminution importante de l'activité visuelle afférente et que le cortex cérébral tend à maintenir un équilibre excitation-inhibition, il serait attendu à ce que la force inhibitrice présynaptique soit diminuée dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes énucléées et anophtalmes. Cependant, nos résultats montrent qu'il n'y a aucune modification des niveaux d'expression de VGAT dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes aveugles précoces. Comme ces résultats sont à l'opposé de ce à quoi on s'attendait, nous avons émis deux nouvelles hypothèses pour tenter d'expliquer ces résultats.

Premièrement, nous avons suggéré que la privation visuelle n'entraîne pas une modification des niveaux d'activité excitatrice corticale chez des sujets aveugles précoces, permettant ainsi le maintien des niveaux d'activité glutamatergiques et GABAergiques dans le cortex visuel primaire. Cette hypothèse semble peu probable étant donné qu'il y a des évidences que la privation visuelle altère les niveaux d'activité excitatrice dans le cortex visuel primaire de sujets aveugles précoces (Wanet-Defalque et al. 1988; Veraart et al. 1990).

Deuxièmement, nous avons suggéré que la privation visuelle induit initialement une diminution des niveaux d'activité excitatrice dans le cortex visuel primaire de souris aveugles précoces, mais des mécanismes d'homéostasie synaptique favoriseraient un retour à des niveaux d'activité excitatrice normaux à l'âge adulte, comme il a été suggéré par une étude sur la modification des récepteurs glutamatergiques et

GABAergiques postsynaptiques dans le cortex visuel primaire de chats monoculairement énucléés à la naissance (Beston et al. 2010).

En effet, des études montrent que la modification des composantes biochimiques postsynaptiques dans le cortex visuel primaire suite à la privation visuelle altère la trajectoire développementale corticale, notamment par une accélération de la maturation des récepteurs glutamatergiques (Chen et al. 2000; Beston et al. 2010) et par une augmentation de la force inhibitrice postsynaptique (Beston et al. 2010) dans le cortex visuel primaire de chatons privés visuellement. Or, les études révèlent que les forces excitatrice et inhibitrice postsynaptiques retournent à des niveaux normaux une fois que les chatons atteignent l'âge adulte. Ceci est important puisque notre étude montre des niveaux d'activité excitatrice et inhibitrice présynaptiques similaires entre les souris adultes aveugles et voyantes. De ce fait, nos résultats présynaptiques coïncideraient avec leurs résultats postsynaptiques, suggérant ainsi que la privation visuelle entraîne initialement la modification des composantes biochimiques présynaptiques chez nos souris aveugles précoces et, par la suite, un retour à des niveaux d'activité excitatrice et inhibitrice présynaptiques normaux à l'âge adulte.

Il est important de mentionner qu'aucune étude n'a été faite chez des rats ou des souris aveugles précoces qui démontrent que la modification des composantes biochimiques postsynaptiques dans le cortex visuel primaire altère la trajectoire développementale corticale suite à la privation visuelle (Chen et al. 2000). Cependant, certaines évidences suggèrent qu'une altération de la trajectoire développementale corticale serait aussi présente chez les rongeurs aveugles précoces suite à la privation visuelle (Chen et Bear 2007).

Considérant cette dernière hypothèse comme plausible, l'absence de modifications significatives des niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes aveugles précoces pourraient être expliquées par une altération de la trajectoire développementale corticale suite à la perte de la vision. Donc, il est probable que la privation visuelle entraîne

initialement la modification des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans le cortex visuel primaire de nos souris aveugles précoces et induire, avec les mécanismes d'homéostasie synaptique, un retour à des niveaux d'activité excitatrice et inhibitrice similaires à ceux des souris voyantes à l'âge adulte grâce aux mécanismes d'homéostasie synaptique.

Malheureusement, il n'existe pas beaucoup d'études sur les effets exacts de la privation visuelle sur la trajectoire développementale du cortex visuel primaire et de ses composantes biochimiques synaptiques. Plusieurs études, principalement chez les rongeurs aveugles précoces, seront nécessaires pour confirmer ces hypothèses.

Dans nos conditions expérimentales, on devrait s'attendre à ce que les mécanismes d'homéostasie synaptique rétablissent l'équilibre excitation-inhibition dans le cortex visuel primaire des animaux adultes aveugles précoces. Or, certaines évidences montrent que les mécanismes d'homéostasie synaptique ne sont pas toujours en mesure de rétablir l'équilibre excitation-inhibition lorsque les niveaux d'activité excitatrice sont modifiés. Par exemple, considérant l'enrichissement sensoriel comme un facteur entraînant une augmentation des niveaux d'activité excitatrice, une étude montre une diminution significative des niveaux d'expression de VGAT dans le cortex visuel primaire des rats adultes élevés en milieu enrichi comparativement aux rats adultes contrôles (Figure 4.2.) (Mainardi et al. 2010). Donc, les mécanismes d'homéostasie synaptique ne parviennent pas à rétablir les niveaux d'expression de VGAT dans le cortex visuel primaire suite à l'augmentation des niveaux d'activité glutamatergique afférente et ainsi maintenir l'équilibre excitation-inhibition.

De ce fait, on pourrait s'attendre à ce que les mécanismes d'homéostasie synaptique ne parviennent pas à rétablir les niveaux d'expression de VGAT dans le cortex visuel primaire de nos souris aveugles précoces rendu à l'âge adulte. Si tel est le cas, il nous est difficile d'expliquer pourquoi l'expression de VGAT n'est pas modifiée dans le cortex visuel primaire des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes.

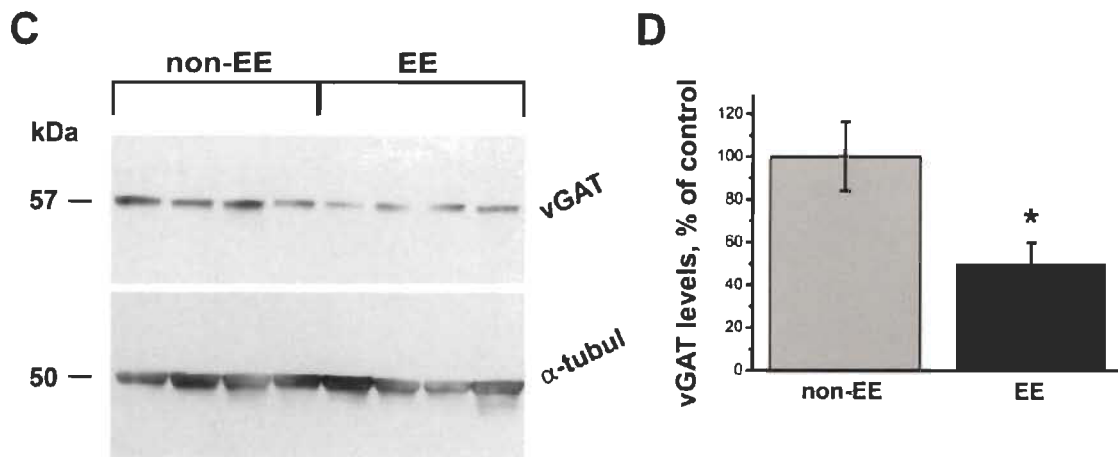


Figure 4.2 Modulation de la force inhibitrice présynaptique corticale. (À gauche) Immunobuvardage de type Western sur des protéines du cortex visuel primaire de rats voyants contrôles (non-EE) et élevés en milieu enrichi (EE). (À droite) Histogramme de l'expression relative des VGAT dans le cortex visuel primaire des rats voyants contrôles (non-EE) et élevé en milieu enrichi (EE). Il y a une diminution significative d'environ 50 % de l'expression des VGAT dans le cortex visuel primaire des rats élevés en milieu enrichi comparativement aux rats contrôles. La force inhibitrice présynaptique corticale est modulée à la baisse lors d'un enrichissement environnemental (Mainardi et al. 2010).

Toutefois, nous supposons que d'autres mécanismes interviennent lors du développement cortical et entraînent les modifications observées par Mainardi et al suite à l'enrichissement sensoriel chez l'adulte. En effet, une étude a démontré la hausse de l'expression de gènes impliqués dans la formation de nouvelles synapses, dans la réorganisation ou le renforcement de synapses existantes et dans l'excitabilité neuronale chez la souris adulte élevée en milieu enrichi (Rampon et al. 2000). De plus, certaines études montrent chez des animaux élevés en milieu enrichi, une augmentation de l'épaisseur des cortex occipital et somatosensoriel (Diamond et al. 1964; Mollgaard et al. 1971), une augmentation de la grosseur du noyau et du corps cellulaire des neurones du cortex occipital (Diamond 1988) ainsi que des changements de la distribution et du nombre de synapses et d'épines dendritiques des neurones du cortex occipital (Mollgaard et al. 1971; Volkmar et Greenough 1972; Greenough et Volkmar 1973; Black et al. 1990) comparativement à des animaux élevés en milieu non-enrichi. Il est probable que la modification de la taille ou de la densité de synapses puissent expliquer

l'augmentation des VGluTs ou la diminution des VGAT dans le cortex visuel primaire. Cependant, une étude a démontré que la modification de la densité des boutons présynaptiques n'induisait aucun changement dans les niveaux d'expression des VGluT1 et VGluT2 contenu dans ces boutons (Moyer et al. 2013). De ce fait, l'absence de modifications des niveaux d'expression de VGAT dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes aveugles précoces ne peut pas être expliquée par ces mécanismes lors d'un enrichissement sensoriel.

Nous avons énuméré quelques hypothèses qui pourraient expliquer nos résultats négatifs dans le cortex visuel primaire de nos souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes. Toutefois, il serait nécessaire d'effectuer plus d'études sur les effets de la privation visuelle sur les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans le cortex visuel primaire de modèles animaux aveugles précoces.

4.3 Modifications des connexions synaptiques dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires

Nous avons comme second objectif de quantifier les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de souris aveugles précoces adultes. Nos résultats démontrent que l'expression de VGluT1, VGluT2 et VGAT n'est pas significativement modifiée dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes comparativement aux souris adultes C57Bl/6 voyantes.

4.3.1 VGluT2

Dans notre étude, nous avons tenté de vérifier l'hypothèse que la perte d'un sens pourrait être en quelque sorte une forme d'enrichissement sensoriel pour les autres sens (Ryugo et al. 1975a). Considérant que l'enrichissement sensoriel favorise une augmentation des niveaux d'expression de VGluT2 dans les connexions

thalamocorticales (Mainardi et al. 2010) et en supposant que les souris énucléées et anophtalmes utilisent leurs sens de façon similaire lorsqu'elles sont dans les cages, on devrait s'attendre à ce que les niveaux d'expression de VGluT2 soient augmentés dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes aveugles précoces. Cependant, nos résultats montrent qu'il n'y a aucune modulation significative des niveaux d'expression de VGluT2 dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes.

De ce fait, nous supposons que les niveaux d'activité thalamocorticale afférente ne sont pas augmentés dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes aveugles précoces. Donc, nos résultats ne concorderaient pas avec les résultats de certaines études qui montrent une augmentation de l'activité excitatrice neuronale associée à une hausse de l'expérience sensorielle non-visuelle lors d'une privation visuelle, notamment dans le cortex somatosensoriel primaire de rats aveugles précoces (Rauschecker et al. 1992; Zheng et Purves 1995).

De plus, il est possible que nos résultats aillent également à l'encontre de certaines évidences comportementales qui suggèrent que le comportement des souris aveugles simulerait probablement des effets comparables à ceux d'un enrichissement sensoriel (Carroll 1962; Wagner-Lampl et Oliver 1994; Merabet et Pascual-Leone 2010). En effet, nous nous attendions à ce que l'utilisation accrue des vibrisses dans l'exploration tactile de l'environnement et une attention auditive supérieure de nos souris aveugles précoces entraînent une augmentation des niveaux d'activité excitatrice afférente dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires suite à la privation visuelle. Cependant, nos résultats montrent que les niveaux d'expression de VGluT2 ne sont pas augmentés dans les cortex auditif primaires des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes suite à la perte de la vision. Conséquemment, nous supposons que nos souris aveugles n'ont pas reçu autant de stimuli auditifs et tactiles dans leur cage pour favoriser l'augmentation des niveaux d'activité thalamocorticale. Une explication possible est que nos souris aveugles précoces n'utilisent pas leurs sens auditif et tactile de manière accrue suite à la privation visuelle.

Dans notre étude, nous n'avons pas fait d'analyse comportementale pour vérifier si les souris aveugles montrent effectivement une utilisation accrue de leurs sens intacts suite à la privation visuelle. Puisque nos résultats vont à l'encontre d'une augmentation des niveaux d'activité glutamatergique afférente dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires des animaux aveugles, il serait important d'effectuer plus d'études pour vérifier si leur comportement est bel et bien modifié.

De plus, nos résultats ne concordent pas avec ceux de l'étude de Mainardi et collègues qui montrent une augmentation des transporteurs vésiculaires glutamatergiques dans le cortex visuel primaire de rats adultes élevés dans un milieu enrichi (Mainardi et al. 2010) étant donné que nous n'observons aucune modification significative des niveaux d'expression de VGluT2 dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes aveugles précoces. Donc, nous pouvons conclure que la privation visuelle ne serait probablement pas une forme d'enrichissement sensoriel pour les modalités sensorielles intactes dans nos conditions expérimentales.

4.3.2 VGluT1

Nous nous attendions à ce que les niveaux d'expression de VGluT1 soient augmentés dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris aveugles précoces, considérant l'augmentation des niveaux d'activité excitatrice dans ces cortex suite à la privation visuelle. Cependant, notre étude a révélé qu'il n'y avait aucune modification significative des niveaux d'expression de VGluT1 dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes aveugles précoces. De ce fait, nos résultats ne concorderaient pas avec d'une étude qui montrent une augmentation des niveaux d'expression de VGluT1 dans le cortex visuel primaire de rats adultes élevés dans un milieu enrichi (Mainardi et al. 2010), ce qui suggèrent également que la privation visuelle n'est pas une forme d'enrichissement sensoriel pour les autres sens.

Toutefois, l'étude de Mainardi et collègues révèle que l'augmentation des niveaux d'activité glutamatergique corticocorticale était directement reliée à la hausse des niveaux d'activité glutamatergique thalamocorticale (VGluT2) (Mainardi et al. 2010). Comme notre étude montre que les niveaux d'expression de VGluT2 dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes aveugles précoces ne sont pas modifiés significativement, il est possible que l'absence de modifications significatives des niveaux d'expression de VGluT1 soit la conséquence de l'absence d'une augmentation des niveaux d'activité glutamatergique thalamocorticale dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris aveugles précoces.

Outre les résultats de l'étude sur l'enrichissement sensoriel du cortex visuel primaire des rats adultes voyants, rien ne nous laisse croire qu'il devrait y avoir une augmentation des niveaux d'expression de VGluT1 dans les connexions corticocorticales des cortex auditif et somatosensoriel primaires des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes suite à la privation visuelle.

4.3.3 VGAT

Nous nous attendions à ce que la force inhibitrice présynaptique, indiquée par les niveaux d'expression de VGAT, soit significativement augmentée dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires afin de moduler la hausse de l'activité excitatrice afférente dans ces cortex, considérant que la perte de la vision est une forme d'enrichissement sensoriel pour les autres sens (Ryugo et al. 1975a) et qu'une augmentation des niveaux d'excitation neuronale entraîne une augmentation proportionnelle de l'inhibition neuronale pour maintenir l'homéostasie corticale (Douglas et al. 1995; Douglas et Martin 2004; Douglas et Martin 2007a). Toutefois, nos résultats montrent qu'il n'y a aucune modulation significative des niveaux d'expression de VGAT dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires des souris adultes C57Bl/6 énucléées et ZRDCT anophtalmes.

De ce fait, notre hypothèse de départ ne s'est pas concrétisée puisque l'équilibre excitation-inhibition n'est probablement pas altéré dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires selon nos conditions expérimentales, suggérant ainsi que les mécanismes d'homéostasie synaptique n'ont pas été sollicités pour rétablir l'équilibre excitation-inhibition dans ces cortex. Donc, nous supposons que l'absence de modification des niveaux d'expression de VGAT est corrélée à l'absence d'une augmentation significative des niveaux d'activité glutamatergique afférente dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes aveugles précoces puisque notre étude montre que les niveaux d'expression des VGluT1 et VGluT2 ne sont pas augmentés dans ces cortex suite à la privation visuelle.

Sur ce, il nous est possible de conclure que le maintien des niveaux d'expression de VGAT dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de nos souris adultes aveugles précoces suggèrent que la privation visuelle n'entraîne est probablement pas une sorte d'enrichissement sensoriel pour les autres sens et ainsi, la modification de l'équilibre excitation-inhibition dans ces cortex dans nos conditions expérimentales.

4.4 Considérations méthodologiques

Dans notre étude, nous avons analysé l'expression des transporteurs vésiculaires du glutamate et du GABA dans le surnageant post-nucléaire des cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires de deux modèles animaux adultes de cécité précoce. Cette fraction biochimique contient les protéines totales du cortex sensoriel primaire dans lequel nous avons enlevé les noyaux cellulaires, les résidus tissulaires et vasculaires. Il serait intéressant pour la suite des expériences d'utiliser une fraction biochimique plus épurée en protéine synaptique qui contiendrait spécifiquement les vésicules présynaptiques des cortex sensoriels primaires pour effectuer les immunobuvardages de type Western. De ce fait, l'étude des niveaux d'expression des VGluTs et VGAT dans les cortex sensoriels primaires bénéficierait d'une plus grande précision expérimentale puisque seule l'expression des transporteurs vésiculaires actifs sur la membrane des vésicules synaptiques serait comptabilisée comparativement à un échantillon de

surageant post-nucléaire qui contient l'ensemble des transporteurs vésiculaires présynaptiques.

De plus, il serait intéressant pour la suite des expériences d'utiliser un protocole d'électrophysiologie pour vérifier si les connexions synaptiques thalamocorticales et corticocorticales possèdent bel et bien des forces excitatrices et inhibitrices présynaptiques inchangées lors de la perte de la vision dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires. Comme les probabilités de relâche de neurotransmetteurs des synapses du cortex visuel primaire sont augmentées suite à la perte de la vision (Yashiro et al. 2005) et que l'amplitude excitatrice postsynaptique est augmentée dans le cortex visuel primaire et diminué dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires de rats élevés à l'obscurité (Goel et al. 2006), il est possible que l'amplitude présynaptique soit également augmentée dans le cortex visuel primaire de nos modèles animaux aveugles précoces.

CONCLUSION

Au laboratoire de neuroanatomie fonctionnelle, la majorité des études sont orientées sur les modifications anatomiques modulées par la perte de la vision dans le cortex cérébral. Afin d'agrandir notre champ de recherche, nous nous sommes dirigés sur l'étude des modifications biochimiques induites par la perte de la vision sur les différents cortex sensoriels. Nous avons établi un protocole expérimental de toutes pièces comprenant des techniques d'immunobuvardage de type Western et d'extraction de protéines corticales afin d'étudier l'expression de certains indicateurs de l'activité présynaptiques, les transporteurs vésiculaires du glutamate et du GABA, dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires de modèles animaux adultes aveugles précoces.

En somme, notre étude a permis de démontrer que la perte de la vision n'altère pas les niveaux d'expression des VGluT1, VGluT2 et VGAT dans les terminaisons présynaptiques des cortex sensoriels primaires chez des modèles animaux adultes de cécité précoce. Toutefois, notre étude ne permet pas de conclure que les effets de la perte de la vision sont caractéristiques d'un enrichissement sensoriel pour les modalités sensorielles restantes chez un individu adulte aveugle. Finalement, il est possible que la modulation de l'expression des transporteurs vésiculaires du glutamate et du GABA dans les terminaisons présynaptiques par la perte de la vision ne soit pas assez importante pour être observée dans nos conditions expérimentales, nécessitant ainsi des études électrophysiologiques et de fractionnement biochimique plus restreint pour déterminer si la perte de la vision altère les niveaux d'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans les aires sensorielles primaires.

Notre étude est innovatrice dans le sens où elle est la première à étudier l'expression des transporteurs vésiculaires glutamatergiques et GABAergiques dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires chez des souris adultes aveugles précoces.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ackman JB, Burbridge TJ et Crair MC. 2012. Retinal waves coordinate patterned activity throughout the developing visual system. *Nature*. 490:219-225.
- Aihara Y, Mashima H, Onda H, Hisano S, Kasuya H, Hori T, Yamada S, Tomura H, Yamada Y, Inoue I, Kojima I et Takeda J. 2000. Molecular cloning of a novel brain-type Na(+)-dependent inorganic phosphate cotransporter. *J Neurochem*. 74:2622-2625.
- Alary F, Duquette M, Goldstein R, Elaine CC, Voss P, La Buissonniere-Ariza V et Lepore F. 2009. Tactile acuity in the blind: a closer look reveals superiority over the sighted in some but not all cutaneous tasks. *Neuropsychologia*. 47:2037-2043.
- Albanese A, Albanese E, Brusco A et Saavedra JP. 1983. A quantitative study of visual cortex synapses during the postnatal development of dark-reared rats. *J Neurobiol*. 14:1-8.
- Amedi A, Malach R, Hendler T, Peled S et Zohary E. 2001. Visuo-haptic object-related activation in the ventral visual pathway. *Nat Neurosci*. 4:324-330.
- Amedi A, Raz N, Pianka P, Malach R et Zohary E. 2003. Early 'visual' cortex activation correlates with superior verbal memory performance in the blind. *Nat Neurosci*. 6:758-766.
- Amilhon B, Lepicard E, Renoir T, Mongeau R, Popa D, Poirel O, Miot S, Gras C, Gardier AM, Gallego J, Hamon M, Lanfumey L, Gasnier B, Giros B et El MS. 2010. VGLUT3 (vesicular glutamate transporter type 3) contribution to the regulation of serotonergic transmission and anxiety. *J Neurosci*. 30:2198-2210.
- Amir S et Stewart J. 1999. Conditioned and unconditioned aversive stimuli enhance light-induced fos expression in the primary visual cortex. *Neuroscience*. 89:323-327.
- Bai L, Xu H, Collins JF et Ghishan FK. 2001. Molecular and functional analysis of a novel neuronal vesicular glutamate transporter. *J Biol Chem*. 276:36764-36769.
- Baroncelli L, Braschi C, Spolidoro M, Begenisic T, Sale A et Maffei L. 2010. Nurturing brain plasticity: impact of environmental enrichment. *Cell Death Differ*. 17:1092-1103.
- Bavelier D et Neville HJ. 2002. Cross-modal plasticity: where and how? *Nat Rev Neurosci*. 3:443-452.
- Bavelier D, Tomann A, Hutton C, Mitchell T, Corina D, Liu G et Neville H. 2000. Visual attention to the periphery is enhanced in congenitally deaf individuals. *J Neurosci*. 20:RC93.

Bear,M.F., Connors,B.W., Paradiso,M.A. & Nieoullon,A. (2002) *Neurosciences: À la découverte du cerveau* Pradel.

Bear MF et Malenka RC. 1994. Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr Opin Neurobiol.* 4:389-399.

Beaulieu C et Colonnier M. 1989a. Effects of the richness of the environment on six different cortical areas of the cat cerebral cortex. *Brain Res.* 495:382-386.

Beaulieu C et Colonnier M. 1989b. Number and size of neurons and synapses in the motor cortex of cats raised in different environmental complexities. *J Comp Neurol.* 289:178-181.

Bellocchio EE, Hu H, Pohorille A, Chan J, Pickel VM et Edwards RH. 1998. The localization of the brain-specific inorganic phosphate transporter suggests a specific presynaptic role in glutamatergic transmission. *J Neurosci.* 18:8648-8659.

Beston BR, Jones DG et Murphy KM. 2010. Experience-dependent changes in excitatory and inhibitory receptor subunit expression in visual cortex. *Front Synaptic Neurosci.* 2:138.

Bezzi P, Gundersen V, Galbete JL, Seifert G, Steinhauser C, Pilati E et Volterra A. 2004. Astrocytes contain a vesicular compartment that is competent for regulated exocytosis of glutamate. *Nat Neurosci.* 7:613-620.

Black JE, Isaacs KR, Anderson BJ, Alcantara AA et Greenough WT. 1990. Learning causes synaptogenesis, whereas motor activity causes angiogenesis, in cerebellar cortex of adult rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87:5568-5572.

Bonino D, Ricciardi E, Sani L, Gentili C, Vanello N, Guazzelli M, Vecchi T et Pietrini P. 2008. Tactile spatial working memory activates the dorsal extrastriate cortical pathway in congenitally blind individuals. *Arch Ital Biol.* 146:133-146.

Boulland JL, Jenstad M, Boekel AJ, Wouterlood FG, Edwards RH, Storm-Mathisen J et Chaudhry FA. 2009. Vesicular glutamate and GABA transporters sort to distinct sets of vesicles in a population of presynaptic terminals. *Cereb Cortex.* 19:241-248.

Bourgeois JP, Jastreboff PJ et Rakic P. 1989. Synaptogenesis in visual cortex of normal and preterm monkeys: evidence for intrinsic regulation of synaptic overproduction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 86:4297-4301.

Bourgeois JP et Rakic P. 1996. Synaptogenesis in the occipital cortex of macaque monkey devoid of retinal input from early embryonic stages. *Eur J Neurosci.* 8:942-950.

Bronchti G, Heil P, Sadka R, Hess A, Scheich H et Wollberg Z. 2002. Auditory activation of "visual" cortical areas in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*). *Eur J Neurosci.* 16:311-329.

- Bronchti G, Heil P, Scheich H et Wollberg Z. 1989. Auditory pathway and auditory activation of primary visual targets in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*): I. 2-deoxyglucose study of subcortical centers. *J Comp Neurol.* 284:253-274.
- Bronchti G, Schonenberger N, Welker E et Van der Loos H. 1992. Barrelfield expansion after neonatal eye removal in mice. *Neuroreport.* 3:489-492.
- Buchel C, Price C, Frackowiak RS et Friston K. 1998. Different activation patterns in the visual cortex of late and congenitally blind subjects. *Brain.* 121 (Pt 3):409-419.
- Bullier J, Hupe JM, James AC et Girard P. 2001. The role of feedback connections in shaping the responses of visual cortical neurons. *Prog Brain Res.* 134:193-204.
- Burton H, Diamond JB et McDermott KB. 2003. Dissociating cortical regions activated by semantic and phonological tasks: a FMRI study in blind and sighted people. *J Neurophysiol.* 90:1965-1982.
- Burton H et McLaren DG. 2006. Visual cortex activation in late-onset, Braille naive blind individuals: an fMRI study during semantic and phonological tasks with heard words. *Neurosci Lett.* 392:38-42.
- Burton H, Snyder AZ, Diamond JB et Raichle ME. 2002. Adaptive changes in early and late blind: a FMRI study of verb generation to heard nouns. *J Neurophysiol.* 88:3359-3371.
- Campi KL, Bales KL, Grunewald R et Krubitzer L. 2010. Connections of auditory and visual cortex in the prairie vole (*Microtus ochrogaster*): evidence for multisensory processing in primary sensory areas. *Cereb Cortex.* 20:89-108.
- Cancedda L, Putignano E, Sale A, Viegi A, Berardi N et Maffei L. 2004. Acceleration of visual system development by environmental enrichment. *J Neurosci.* 24:4840-4848.
- Cang J, Renteria RC, Kaneko M, Liu X, Copenhagen DR et Stryker MP. 2005. Development of precise maps in visual cortex requires patterned spontaneous activity in the retina. *Neuron.* 48:797-809.
- Cappe C et Barone P. 2005. Heteromodal connections supporting multisensory integration at low levels of cortical processing in the monkey. *Eur J Neurosci.* 22:2886-2902.
- Cappe C, Rouiller EM et Barone P. 2009. Multisensory anatomical pathways. *Hear Res.* 258:28-36.
- Cappe C, Rouiller EM et Barone P. 2012. Cortical and Thalamic Pathways for Multisensory and Sensorimotor Interplay.
- Carroll, T.J. (1962) *Blindness: What It Is, What It Does, And How To Live With It* Little, Boston.

- Cattaneo Z, Vecchi T, Cornoldi C, Mammarella I, Bonino D, Ricciardi E et Pietrini P. 2008. Imagery and spatial processes in blindness and visual impairment. *Neurosci Biobehav Rev.* 32:1346-1360.
- Chabot N, Charbonneau V, Laramée ME, Tremblay R, Boire D et Bronchti G. 2008. Subcortical auditory input to the primary visual cortex in anophthalmic mice. *Neurosci Lett.* 433:129-134.
- Chabot N, Robert S, Tremblay R, Miceli D, Boire D et Bronchti G. 2007. Audition differently activates the visual system in neonatally enucleated mice compared with anophthalmic mutants. *Eur J Neurosci.* 26:2334-2348.
- Charbonneau V, Laramée ME, Boucher V, Bronchti G et Boire D. 2012. Cortical and subcortical projections to primary visual cortex in anophthalmic, enucleated and sighted mice. *Eur J Neurosci.*
- Chase HB et Chase EB. 1941. Studies on an anophthalmic strain of mice. I. Embryology of the eye region. *J Morphol.* 68:279-401.
- Chaudhry FA, Reimer RJ, Bellocchio EE, Danbolt NC, Osen KK, Edwards RH et Storm-Mathisen J. 1998. The vesicular GABA transporter, VGAT, localizes to synaptic vesicles in sets of glycinergic as well as GABAergic neurons. *J Neurosci.* 18:9733-9750.
- Chen L, Cooper NG et Mower GD. 2000. Developmental changes in the expression of NMDA receptor subunits (NR1, NR2A, NR2B) in the cat visual cortex and the effects of dark rearing. *Brain Res Mol Brain Res.* 78:196-200.
- Chen WS et Bear MF. 2007. Activity-dependent regulation of NR2B translation contributes to metaplasticity in mouse visual cortex. *Neuropharmacology.* 52:200-214.
- Clancy B, Darlington RB et Finlay BL. 2001. Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience.* 105:7-17.
- Cohen LG, Celnik P, Pascual-Leone A, Corwell B, Falz L, Dambrosia J, Honda M, Sadato N, Gerloff C, CATALA MD et Hallett M. 1997. Functional relevance of cross-modal plasticity in blind humans. *Nature.* 389:180-183.
- Collignon O, Voss P, Lassonde M et Lepore F. 2009. Cross-modal plasticity for the spatial processing of sounds in visually deprived subjects. *Exp Brain Res.* 192:343-358.
- Colliver TL, Pyott SJ, Achalabun M et Ewing AG. 2000. VMAT-Mediated changes in quantal size and vesicular volume. *J Neurosci.* 20:5276-5282.
- Cooper HM, Herbin M et Nevo E. 1993. Visual system of a naturally microphthalmic mammal: the blind mole rat, *Spalax ehrenbergi*. *J Comp Neurol.* 328:313-350.

- Cotrufo T, Viegi A, Berardi N, Bozzi Y, Mascia L et Maffei L. 2003. Effects of neurotrophins on synaptic protein expression in the visual cortex of dark-reared rats. *J Neurosci*. 23:3566-3571.
- Crair MC, Gillespie DC et Stryker MP. 1998. The role of visual experience in the development of columns in cat visual cortex. *Science*. 279:566-570.
- Cull-Candy SG et Leszkiewicz DN. 2004. Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Sci STKE*. 2004:re16.
- Dal BG, Berube-Carriere N, Mendez JA, Leo D, Riad M, Descarries L, Levesque D et Trudeau LE. 2008. Enhanced glutamatergic phenotype of mesencephalic dopamine neurons after neonatal 6-hydroxydopamine lesion. *Neuroscience*. 156:59-70.
- Daniels RW, Collins CA, Chen K, Gelfand MV, Featherstone DE et DiAntonio A. 2006. A single vesicular glutamate transporter is sufficient to fill a synaptic vesicle. *Neuron*. 49:11-16.
- Daniels RW, Miller BR et DiAntonio A. 2011. Increased vesicular glutamate transporter expression causes excitotoxic neurodegeneration. *Neurobiol Dis*. 41:415-420.
- Dehay C, Horsburgh G, Berland M, Killackey H et Kennedy H. 1989. Maturation and connectivity of the visual cortex in monkey is altered by prenatal removal of retinal input. *Nature*. 337:265-267.
- Desai NS, Cudmore RH, Nelson SB et Turrigiano GG. 2002. Critical periods for experience-dependent synaptic scaling in visual cortex. *Nat Neurosci*. 5:783-789.
- Descarries L, Berube-Carriere N, Riad M, Bo GD, Mendez JA et Trudeau LE. 2008. Glutamate in dopamine neurons: synaptic versus diffuse transmission. *Brain Res Rev*. 58:290-302.
- Desgent S, Boire D et Ptito M. 2010. Altered expression of parvalbumin and calbindin in interneurons within the primary visual cortex of neonatal enucleated hamsters. *Neuroscience*. 171:1326-1340.
- Diamond, M.C. (1988) *Enriching Heredity: The Impact of the Environment on the Anatomy of the Brain*.
- Diamond MC, Krech D et Rosenzweig MR. 1964. THE EFFECTS OF AN ENRICHED ENVIRONMENT ON THE HISTOLOGY OF THE RAT CEREBRAL CORTEX. *J Comp Neurol*. 123:111-120.
- Dingledine R, Borges K, Bowie D et Traynelis SF. 1999. The glutamate receptor ion channels. *Pharmacol Rev*. 51:7-61.

- Disbrow JK, Gershten MJ et Ruth JA. 1982. Uptake of L-[3H] glutamic acid by crude and purified synaptic vesicles from rat brain. *Biochem Biophys Res Commun*. 108:1221-1227.
- Doron N et Wollberg Z. 1994. Cross-modal neuroplasticity in the blind mole rat *Spalax ehrenbergi*: a WGA-HRP tracing study. *Neuroreport*. 5:2697-2701.
- Douglas RJ, Koch C, Mahowald M, Martin KA et Suarez HH. 1995. Recurrent excitation in neocortical circuits. *Science*. 269:981-985.
- Douglas RJ et Martin KA. 2004. Neuronal circuits of the neocortex. *Annu Rev Neurosci*. 27:419-451.
- Douglas RJ et Martin KA. 2007a. Mapping the matrix: the ways of neocortex. *Neuron*. 56:226-238.
- Douglas RJ et Martin KA. 2007b. Recurrent neuronal circuits in the neocortex. *Curr Biol*. 17:R496-R500.
- Douglas RJ et Martin KA. 2009. Inhibition in cortical circuits. *Curr Biol*. 19:R398-R402.
- Driver J et Noesselt T. 2008. Multisensory interplay reveals crossmodal influences on 'sensory-specific' brain regions, neural responses, and judgments. *Neuron*. 57:11-23.
- Dursteler MR, Blakemore C et Garey LJ. 1979. Projections to the visual cortex in the golden hamster. *J Comp Neurol*. 183:185-204.
- Edwards RH. 2007. The neurotransmitter cycle and quantal size. *Neuron*. 55:835-858.
- El Mestikawy S, Wallen-Mackenzie A, Fortin GM, Descarries L et Trudeau LE. 2011. From glutamate co-release to vesicular synergy: vesicular glutamate transporters. *Nat Rev Neurosci*. 12:204-216.
- Espinosa JS et Stryker MP. 2012. Development and plasticity of the primary visual cortex. *Neuron*. 75:230-249.
- Falchier A, Clavagnier S, Barone P et Kennedy H. 2002. Anatomical evidence of multimodal integration in primate striate cortex. *J Neurosci*. 22:5749-5759.
- Fattorini G, Verderio C, Melone M, Giovedi S, Benfenati F, Matteoli M et Conti F. 2009. VGLUT1 and VGAT are sorted to the same population of synaptic vesicles in subsets of cortical axon terminals. *J Neurochem*. 110:1538-1546.
- Feller MB, Wellis DP, Stellwagen D, Werblin FS et Shatz CJ. 1996. Requirement for cholinergic synaptic transmission in the propagation of spontaneous retinal waves. *Science*. 272:1182-1187.

- Fonnum F, Karlsten RL, Malthé-Sørensen D, Skrede KK et Walaas I. 1979. Localization of neurotransmitters, particularly glutamate, in hippocampus, septum, nucleus accumbens and superior colliculus. *Prog Brain Res.* 51:167-191.
- Forgacs M. 2000. Structure, mechanism and regulation of the clathrin-coated vesicle and yeast vacuolar H(+)-ATPases. *J Exp Biol.* 203:71-80.
- Fortin GM, Bourque MJ, Mendez JA, Leo D, Nordenankar K, Birgner C, Arvidsson E, Rymar VV, Berube-Carrière N, Claveau AM, Descarries L, Sadikot AF, Wallen-Mackenzie A et Trudeau LE. 2012. Glutamate corelease promotes growth and survival of midbrain dopamine neurons. *J Neurosci.* 32:17477-17491.
- Freneau RT, Jr., Burman J, Qureshi T, Tran CH, Proctor J, Johnson J, Zhang H, Sulzer D, Copenhagen DR, Storm-Mathisen J, Reimer RJ, Chaudhry FA et Edwards RH. 2002. The identification of vesicular glutamate transporter 3 suggests novel modes of signaling by glutamate. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 99:14488-14493.
- Freneau RT, Jr., Kam K, Qureshi T, Johnson J, Copenhagen DR, Storm-Mathisen J, Chaudhry FA, Nicoll RA et Edwards RH. 2004a. Vesicular glutamate transporters 1 and 2 target to functionally distinct synaptic release sites. *Science.* 304:1815-1819.
- Freneau RT, Jr., Voglmaier S, Seal RP et Edwards RH. 2004b. VGLUTs define subsets of excitatory neurons and suggest novel roles for glutamate. *Trends Neurosci.* 27:98-103.
- Furukawa H, Singh SK, Mancusso R et Gouaux E. 2005. Subunit arrangement and function in NMDA receptors. *Nature.* 438:185-192.
- Fykse EM et Fonnum F. 1988. Uptake of gamma-aminobutyric acid by a synaptic vesicle fraction isolated from rat brain. *J Neurochem.* 50:1237-1242.
- Garrett B, Sørensen JC et Slomianka L. 1992. Fluoro-Gold tracing of zinc-containing afferent connections in the mouse visual cortices. *Anat Embryol (Berl).* 185:451-459.
- Gasnier B. 2000. The loading of neurotransmitters into synaptic vesicles. *Biochimie.* 82:327-337.
- Globus A et Scheibel AB. 1967. Synaptic loci on visual cortical neurons of the rabbit: the specific afferent radiation. *Exp Neurol.* 18:116-131.
- Godement P, Saillour P et Imbert M. 1979. Thalamic afferents to the visual cortex in congenitally anophthalmic mice. *Neurosci Lett.* 13:271-278.
- Goel A, Jiang B, Xu LW, Song L, Kirkwood A et Lee HK. 2006. Cross-modal regulation of synaptic AMPA receptors in primary sensory cortices by visual experience. *Nat Neurosci.* 9:1001-1003.

- Goldreich D et Kanics IM. 2003. Tactile acuity is enhanced in blindness. *J Neurosci.* 23:3439-3445.
- Goldreich D et Kanics IM. 2006. Performance of blind and sighted humans on a tactile grating detection task. *Percept Psychophys.* 68:1363-1371.
- Gong LW, Hafez I, Alvarez de TG et Lindau M. 2003. Secretory vesicles membrane area is regulated in tandem with quantal size in chromaffin cells. *J Neurosci.* 23:7917-7921.
- Goodman CS et Shatz CJ. 1993. Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell.* 72 Suppl:77-98.
- Gordois A, Cutler H, Pezzullo L, Gordon K, Cruess A, Winyard S, Hamilton W et Chua K. 2012. An estimation of the worldwide economic and health burden of visual impairment. *Glob Public Health.* 7:465-481.
- Gougoux F, Lepore F, Lassonde M, Voss P, Zatorre RJ et Belin P. 2004. Neuropsychology: pitch discrimination in the early blind. *Nature.* 430:309.
- Gougoux F, Zatorre RJ, Lassonde M, Voss P et Lepore F. 2005. A functional neuroimaging study of sound localization: visual cortex activity predicts performance in early-blind individuals. *PLoS Biol.* 3:e27.
- Grant AC, Thiagarajah MC et Sathian K. 2000. Tactile perception in blind Braille readers: a psychophysical study of acuity and hyperacuity using gratings and dot patterns. *Percept Psychophys.* 62:301-312.
- Gras C, Amilhon B, Lepicard EM, Poirel O, Vinatier J, Herbin M, Dumas S, Tzavara ET, Wade MR, Nomikos GG, Hanoun N, Saurini F, Kemel ML, Gasnier B, Giros B et El MS. 2008. The vesicular glutamate transporter VGLUT3 synergizes striatal acetylcholine tone. *Nat Neurosci.* 11:292-300.
- Gras C, Herzog E, Bellenchi GC, Bernard V, Ravassard P, Pohl M, Gasnier B, Giros B et El MS. 2002. A third vesicular glutamate transporter expressed by cholinergic and serotonergic neurons. *J Neurosci.* 22:5442-5451.
- Greenough WT et Volkmar FR. 1973. Pattern of dendritic branching in occipital cortex of rats reared in complex environments. *Exp Neurol.* 40:491-504.
- Gyllensten L, MALMFORS T et NORRLIN ML. 1965. Effect of visual deprivation on the optic centers of growing and adult mice. *J Comp Neurol.* 124:149-160.
- Hall AJ et Lomber SG. 2008. Auditory cortex projections target the peripheral field representation of primary visual cortex. *Exp Brain Res.* 190:413-430.
- Hamilton RH et Pascual-Leone A. 1998. Cortical plasticity associated with Braille learning. *Trends Cogn Sci.* 2:168-174.

- Hamilton RH, Pascual-Leone A et Schlaug G. 2004. Absolute pitch in blind musicians. *Neuroreport*. 15:803-806.
- Heil P, Bronchti G, Wollberg Z et Scheich H. 1991. Invasion of visual cortex by the auditory system in the naturally blind mole rat. *Neuroreport*. 2:735-738.
- Heller MA, Calcaterra JA, Burson LL et Tyler LA. 1996a. Tactual picture identification by blind and sighted people: effects of providing categorical information. *Percept Psychophys*. 58:310-323.
- Heller MA, Calcaterra JA, Tyler LA et Burson LL. 1996b. Production and interpretation of perspective drawings by blind and sighted people. *Perception*. 25:321-334.
- Herzog E, Bellenchi GC, Gras C, Bernard V, Ravassard P, Bedet C, Gasnier B, Giros B et El MS. 2001. The existence of a second vesicular glutamate transporter specifies subpopulations of glutamatergic neurons. *J Neurosci*. 21:RC181.
- Herzog E, Landry M, Buhler E, Bouali-Benazzouz R, Legay C, Henderson CE, Nagy F, Dreyfus P, Giros B et El MS. 2004. Expression of vesicular glutamate transporters, VGLUT1 and VGLUT2, in cholinergic spinal motoneurons. *Eur J Neurosci*. 20:1752-1760.
- Hisano S, Hoshi K, Ikeda Y, Maruyama D, Kanemoto M, Ichijo H, Kojima I, Takeda J et Nogami H. 2000. Regional expression of a gene encoding a neuron-specific Na(+)-dependent inorganic phosphate cotransporter (DNPI) in the rat forebrain. *Mol Brain Res*. 83:34-43.
- Hollins,M. (1989) *Understanding Blindness* Erlbaum, Hillsdale.
- Hubel DH et Wiesel TN. 1977. Ferrier lecture. Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 198:1-59.
- Izraeli R, Koay G, Lamish M, Heicklen-Klein AJ, Heffner HE, Heffner RS et Wollberg Z. 2002. Cross-modal neuroplasticity in neonatally enucleated hamsters: structure, electrophysiology and behaviour. *Eur J Neurosci*. 15:693-712.
- Jahn R et Sudhof TC. 1993. Synaptic vesicle traffic: rush hour in the nerve terminal. *J Neurochem*. 61:12-21.
- Jahn R et Sudhof TC. 1994. Synaptic vesicles and exocytosis. *Annu Rev Neurosci*. 17:219-246.
- Jiang J, Zhu W, Shi F, Liu Y, Li J, Qin W, Li K, Yu C et Jiang T. 2009. Thick visual cortex in the early blind. *J Neurosci*. 29:2205-2211.
- Johnson,M. (1997) *Developmental cognitive neuroscience* Blackwell, Cambridge,MA.

- Jones EG. 1993. GABAergic neurons and their role in cortical plasticity in primates. *Cereb Cortex*. 3:361-372.
- Ju W, Morishita W, Tsui J, Gaietta G, Deerinck TJ, Adams SR, Garner CC, Tsien RY, Ellisman MH et Malenka RC. 2004. Activity-dependent regulation of dendritic synthesis and trafficking of AMPA receptors. *Nat Neurosci*. 7:244-253.
- Kahn DM et Krubitzer L. 2002. Massive cross-modal cortical plasticity and the emergence of a new cortical area in developmentally blind mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 99:11429-11434.
- Kaiserman-Abramof IR. 1979. Quantitative comparison of spines in layer V neurons of the striate cortex in anophthalmic mutant and normal mice. *Brain Res*. 179:385-389.
- Kaiserman-Abramof IR, Graybiel AM et Nauta WJ. 1980. The thalamic projection to cortical area 17 in a congenitally anophthalmic mouse strain. *Neuroscience*. 5:41-52.
- Kaneko T et Fujiyama F. 2002. Complementary distribution of vesicular glutamate transporters in the central nervous system. *Neurosci Res*. 42:243-250.
- Kao YH, Lassova L, Bar-Yehuda T, Edwards RH, Sterling P et Vardi N. 2004. Evidence that certain retinal bipolar cells use both glutamate and GABA. *J Comp Neurol*. 478:207-218.
- Karlen SJ, Kahn DM et Krubitzer L. 2006. Early blindness results in abnormal corticocortical and thalamocortical connections. *Neuroscience*. 142:843-858.
- Karlen SJ et Krubitzer L. 2009. Effects of bilateral enucleation on the size of visual and nonvisual areas of the brain. *Cereb Cortex*. 19:1360-1371.
- Katz LC et Crowley JC. 2002. Development of cortical circuits: lessons from ocular dominance columns. *Nat Rev Neurosci*. 3:34-42.
- Katz LC et Shatz CJ. 1996. Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science*. 274:1133-1138.
- Kauffman T, Theoret H et Pascual-Leone A. 2002. Braille character discrimination in blindfolded human subjects. *Neuroreport*. 13:571-574.
- Kawano M, Kawasaki A, Sakata-Haga H, Fukui Y, Kawano H, Nogami H et Hisano S. 2006. Particular subpopulations of midbrain and hypothalamic dopamine neurons express vesicular glutamate transporter 2 in the rat brain. *J Comp Neurol*. 498:581-592.
- King AJ et Parsons CH. 1999. Improved auditory spatial acuity in visually deprived ferrets. *Eur J Neurosci*. 11:3945-3956.

- Kitajima M, Korogi Y, Hirai T, Hamatake S, Ikushima I, Sugahara T, Shigematsu Y, Takahashi M et Mukuno K. 1997. MR changes in the calcarine area resulting from retinal degeneration. *AJNR Am J Neuroradiol.* 18:1291-1295.
- Klinge C, Eippert F, Roder B et Buchel C. 2010. Corticocortical connections mediate primary visual cortex responses to auditory stimulation in the blind. *J Neurosci.* 30:12798-12805.
- Krubitzer L. 2007. The magnificent compromise: cortical field evolution in mammals. *Neuron.* 56:201-208.
- Kudo M, Moriya M et Mizuno N. 1997. Auditory projections from the IC to the SCN by way of the LG in the mole, *Mogera*. *Neuroreport.* 8:3405-3409.
- Kujala T, Alho K, Huotilainen M, Ilmoniemi RJ, Lehtokoski A, Leinonen A, Rinne T, Salonen O, Sinkkonen J, Standertskjold-Nordenstam CG et Naatanen R. 1997. Electrophysiological evidence for cross-modal plasticity in humans with early- and late-onset blindness. *Psychophysiology.* 34:213-216.
- Kujala T, Alho K, Paavilainen P, Summala H et Naatanen R. 1992. Neural plasticity in processing of sound location by the early blind: an event-related potential study. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 84:469-472.
- Kujala T, Palva MJ, Salonen O, Alku P, Huotilainen M, Jarvinen A et Naatanen R. 2005. The role of blind humans' visual cortex in auditory change detection. *Neurosci Lett.* 379:127-131.
- Kupers R, Pappens M, de Noordhout AM, Schoenen J, Ptito M et Fumal A. 2007. rTMS of the occipital cortex abolishes Braille reading and repetition priming in blind subjects. *Neurology.* 68:691-693.
- Laemle LK, Fugaro C et Bentley T. 1993. The geniculohypothalamic pathway in a congenitally anophthalmic mouse. *Brain Res.* 618:352-357.
- Laemle LK, Puzkarczuk M et Feinberg RN. 1999. Apoptosis in early ocular morphogenesis in the mouse. *Brain Res Dev Brain Res.* 112:129-133.
- Laemle LK, Strominger NL et Carpenter DO. 2006. Cross-modal innervation of primary visual cortex by auditory fibers in congenitally anophthalmic mice. *Neurosci Lett.* 396:108-112.
- Laramée ME, Kurotani T, Rockland KS, Bronchti G et Boire D. 2011. Indirect pathway between the primary auditory and visual cortices through layer V pyramidal neurons in V2L in mouse and the effects of bilateral enucleation. *Eur J Neurosci.* 34:65-78.
- Laramée ME, Rockland KS, Prince S, Bronchti G et Boire D. 2012. Principal Component and Cluster Analysis of Layer V Pyramidal Cells in Visual and Non-Visual Cortical Areas Projecting to the Primary Visual Cortex of the Mouse. *Cereb Cortex.*

- Larsen DD, Luu JD, Burns ME et Krubitzer L. 2009. What are the Effects of Severe Visual Impairment on the Cortical Organization and Connectivity of Primary Visual Cortex? *Front Neuroanat.* 3:30.
- Leclerc C, Saint-Amour D, Lavoie ME, Lassonde M et Lepore F. 2000. Brain functional reorganization in early blind humans revealed by auditory event-related potentials. *Neuroreport.* 11:545-550.
- Liu Y, Yu C, Liang M, Li J, Tian L, Zhou Y, Qin W, Li K et Jiang T. 2007. Whole brain functional connectivity in the early blind. *Brain.* 130:2085-2096.
- Macaluso E et Driver J. 2003. Multimodal spatial representations in the human parietal cortex: evidence from functional imaging. *Adv Neurol.* 93:219-233.
- Macaluso E et Driver J. 2005. Multisensory spatial interactions: a window onto functional integration in the human brain. *Trends Neurosci.* 28:264-271.
- Maffei A, Bucher D et Fontanini A. 2012. Homeostatic plasticity in the nervous system. *Neural Plast.* 2012:913472.
- Maffei A, Nataraj K, Nelson SB et Turrigiano GG. 2006. Potentiation of cortical inhibition by visual deprivation. *Nature.* 443:81-84.
- Maffei A, Nelson SB et Turrigiano GG. 2004. Selective reconfiguration of layer 4 visual cortical circuitry by visual deprivation. *Nat Neurosci.* 7:1353-1359.
- Mainardi M, Landi S, Gianfranceschi L, Baldini S, De PR, Berardi N, Maffei L et Caleo M. 2010. Environmental enrichment potentiates thalamocortical transmission and plasticity in the adult rat visual cortex. *J Neurosci Res.* 88:3048-3059.
- Majdan M et Shatz CJ. 2006. Effects of visual experience on activity-dependent gene regulation in cortex. *Nat Neurosci.* 9:650-659.
- Malenka RC et Bear MF. 2004. LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron.* 44:5-21.
- Malinow R et Malenka RC. 2002. AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci.* 25:103-126.
- Markram H, Toledo-Rodriguez M, Wang Y, Gupta A, Silberberg G et Wu C. 2004. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nat Rev Neurosci.* 5:793-807.
- Masson J, Sagne C, Hamon M et El MS. 1999. Neurotransmitter transporters in the central nervous system. *Pharmacol Rev.* 51:439-464.
- Mayer ML. 2006. Glutamate receptors at atomic resolution. *Nature.* 440:456-462.
- McCann CM, Nguyen QT, Santo NH et Lichtman JW. 2007. Rapid synapse elimination after postsynaptic protein synthesis inhibition in vivo. *J Neurosci.* 27:6064-6067.

- Meldrum BS. 2000. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *J Nutr.* 130:1007S-1015S.
- Mendez JA, Bourque MJ, Dal BG, Bourdeau ML, Danik M, Williams S, Lacaille JC et Trudeau LE. 2008. Developmental and target-dependent regulation of vesicular glutamate transporter expression by dopamine neurons. *J Neurosci.* 28:6309-6318.
- Merabet LB et Pascual-Leone A. 2010. Neural reorganization following sensory loss: the opportunity of change. *Nat Rev Neurosci.* 11:44-52.
- Miller EK. 1999. The prefrontal cortex: complex neural properties for complex behavior. *Neuron.* 22:15-17.
- Miller KD. 1996. Synaptic economics: competition and cooperation in synaptic plasticity. *Neuron.* 17:371-374.
- Miller KD et MacKay DJC. 1994. The Role of Constraints in Hebbian Learning. *Neural Computation.* 6:100-126.
- Mollgaard K, Diamond MC, Bennett EL, Rosenzweig MR et Lindner B. 1971. Quantitative synaptic changes with differential experience in rat brain. *Int J Neurosci.* 2:113-127.
- Montana V, Ni Y, Sunjara V, Hua X et Parpura V. 2004. Vesicular glutamate transporter-dependent glutamate release from astrocytes. *J Neurosci.* 24:2633-2642.
- Morimoto R, Hayashi M, Yatsushiro S, Otsuka M, Yamamoto A et Moriyama Y. 2003. Co-expression of vesicular glutamate transporters (VGLUT1 and VGLUT2) and their association with synaptic-like microvesicles in rat pinealocytes. *J Neurochem.* 84:382-391.
- Morrell F. 1972. Visual system's view of acoustic space. *Nature.* 238:44-46.
- Moyer CE, Delevich KM, Fish KN, Asafu-Adjei JK, Sampson AR, Dorph-Petersen KA, Lewis DA et Sweet RA. 2013. Intracortical excitatory and thalamocortical boutons are intact in primary auditory cortex in schizophrenia. *Schizophr Res.*
- Murphy BK et Miller KD. 2009. Balanced amplification: a new mechanism of selective amplification of neural activity patterns. *Neuron.* 61:635-648.
- Naito S et Ueda T. 1985. Characterization of glutamate uptake into synaptic vesicles. *J Neurochem.* 44:99-109.
- Nakamura K, Hioki H, Fujiyama F et Kaneko T. 2005. Postnatal changes of vesicular glutamate transporter (VGluT)1 and VGluT2 immunoreactivities and their colocalization in the mouse forebrain. *J Comp Neurol.* 492:263-288.

- Nakamura K, Watakabe A, Hioki H, Fujiyama F, Tanaka Y, Yamamori T et Kaneko T. 2007. Transiently increased colocalization of vesicular glutamate transporters 1 and 2 at single axon terminals during postnatal development of mouse neocortex: a quantitative analysis with correlation coefficient. *Eur J Neurosci*. 26:3054-3067.
- Ni B, Wu X, Yan GM, Wang J et Paul SM. 1995. Regional expression and cellular localization of the Na(+)-dependent inorganic phosphate cotransporter of rat brain. *J Neurosci*. 15:5789-5799.
- Nieuwenhuys R. 1994. The neocortex. An overview of its evolutionary development, structural organization and synaptology. *Anat Embryol (Berl)*. 190:307-337.
- Nieuwenhuys,R., Voogd,J. & Van Huijzen,C. (2007) *The Human Central Nervous System* Steinkopff; 4th edition.
- Olavarria J et Van Sluyters RC. 1984. Callosal connections of the posterior neocortex in normal-eyed, congenitally anophthalmic, and neonatally enucleated mice. *J Comp Neurol*. 230:249-268.
- Ottem EN, Godwin JG, Krishnan S et Petersen SL. 2004. Dual-phenotype GABA/glutamate neurons in adult preoptic area: sexual dimorphism and function. *J Neurosci*. 24:8097-8105.
- Palmada M et Centelles JJ. 1998. Excitatory amino acid neurotransmission. Pathways for metabolism, storage and reuptake of glutamate in brain. *Front Biosci*. 3:d701-d718.
- Pan WJ, Wu G, Li CX, Lin F, Sun J et Lei H. 2007. Progressive atrophy in the optic pathway and visual cortex of early blind Chinese adults: A voxel-based morphometry magnetic resonance imaging study. *Neuroimage*. 37:212-220.
- Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F et Merabet LB. 2005. The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci*. 28:377-401.
- Pascual-Leone A et Hamilton R. 2001. The metamodal organization of the brain. *Prog Brain Res*. 134:427-445.
- Pascual-Leone A et Walsh V. 2001. Fast backprojections from the motion to the primary visual area necessary for visual awareness. *Science*. 292:510-512.
- Paxinos,G.E. & Franklin,K.B.J. (2001) *The mouse brain in stereotaxic coordinates, 2nd edition* Academic Press, San Diego.
- Philpot BD, Sekhar AK, Shouval HZ et Bear MF. 2001. Visual experience and deprivation bidirectionally modify the composition and function of NMDA receptors in visual cortex. *Neuron*. 29:157-169.

- Piché M, Chabot N, Bronchti G, Miceli D, Lepore F et Guillemot JP. 2007. Auditory responses in the visual cortex of neonatally enucleated rats. *Neuroscience*. 145:1144-1156.
- Piché M, Robert S, Miceli D et Bronchti G. 2004. Environmental enrichment enhances auditory takeover of the occipital cortex in anophthalmic mice. *Eur J Neurosci*. 20:3463-3472.
- Poirier C, Collignon O, Scheiber C, Renier L, Vanlierde A, Tranduy D, Veraart C et De Volder AG. 2006. Auditory motion perception activates visual motion areas in early blind subjects. *Neuroimage*. 31:279-285.
- Price DJ, Ferrer JM, Blakemore C et Kato N. 1994. Postnatal development and plasticity of corticocortical projections from area 17 to area 18 in the cat's visual cortex. *J Neurosci*. 14:2747-2762.
- Ptito M, Schneider FC, Paulson OB et Kupers R. 2008. Alterations of the visual pathways in congenital blindness. *Exp Brain Res*. 187:41-49.
- Purves,D. (2007) *Neuroscience, Fourth Edition* Sinauer Associates, Inc, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Rakic P. 1988. Specification of cerebral cortical areas. *Science*. 241:170-176.
- Rampon C, Jiang CH, Dong H, Tang YP, Lockhart DJ, Schultz PG, Tsien JZ et Hu Y. 2000. Effects of environmental enrichment on gene expression in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 97:12880-12884.
- Rauschecker JP. 1995. Compensatory plasticity and sensory substitution in the cerebral cortex. *Trends Neurosci*. 18:36-43.
- Rauschecker JP et Kniepert U. 1994. Auditory localization behaviour in visually deprived cats. *Eur J Neurosci*. 6:149-160.
- Rauschecker JP, Tian B, Korte M et Egert U. 1992. Crossmodal changes in the somatosensory vibrissa/barrel system of visually deprived animals. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 89:5063-5067.
- Reimer RJ, Fremeau RT, Jr., Bellocchio EE et Edwards RH. 2001. The essence of excitation. *Curr Opin Cell Biol*. 13:417-421.
- Renier L, De Volder AG et Rauschecker JP. 2013. Cortical plasticity and preserved function in early blindness. *Neurosci Biobehav Rev*.
- Renier LA, Anurova I, De Volder AG, Carlson S, VanMeter J et Rauschecker JP. 2010. Preserved functional specialization for spatial processing in the middle occipital gyrus of the early blind. *Neuron*. 68:138-148.

- Rhoades RW, Mooney RD et Fish SE. 1985. Subcortical projections of area 17 in the anophthalmic mouse. *Brain Res.* 349:171-181.
- Rieck RW et Carey RG. 1985. Organization of the rostral thalamus in the rat: evidence for connections to layer I of visual cortex. *J Comp Neurol.* 234:137-154.
- Ripley B, Otto S, Tiglio K, Williams ME et Ghosh A. 2011. Regulation of synaptic stability by AMPA receptor reverse signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 108:367-372.
- Roder B, Stock O, Bien S, Neville H et Rosler F. 2002. Speech processing activates visual cortex in congenitally blind humans. *Eur J Neurosci.* 16:930-936.
- Ryugo DK, Ryugo R, Globus A et Killackey HP. 1975a. Increased spine density in auditory cortex following visual or somatic deafferentation. *Brain Res.* 90:143-146.
- Ryugo R, Ryugo DK et Killackey HP. 1975b. Differential effect of enucleation on two populations of layer V pyramidal cells. *Brain Res.* 88:554-559.
- Sadato N, Okada T, Honda M et Yonekura Y. 2002. Critical period for cross-modal plasticity in blind humans: a functional MRI study. *Neuroimage.* 16:389-400.
- Sadato N, Pascual-Leone A, Grafman J, Ibanez V, Deiber MP, Dold G et Hallett M. 1996. Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects. *Nature.* 380:526-528.
- Saenz M, Lewis LB, Huth AG, Fine I et Koch C. 2008. Visual Motion Area MT+/V5 Responds to Auditory Motion in Human Sight-Recovery Subjects. *J Neurosci.* 28:5141-5148.
- Sale A, Berardi N, Spolidoro M, Baroncelli L et Maffei L. 2010. GABAergic inhibition in visual cortical plasticity. *Front Cell Neurosci.* 4:10.
- Sale A, Putignano E, Cancedda L, Landi S, Cirulli F, Berardi N et Maffei L. 2004. Enriched environment and acceleration of visual system development. *Neuropharmacology.* 47:649-660.
- Scali M, Baroncelli L, Cenni MC, Sale A et Maffei L. 2012. A rich environmental experience reactivates visual cortex plasticity in aged rats. *Exp Gerontol.* 47:337-341.
- Schafer MK, Eiden LE et Weihe E. 1998. Cholinergic neurons and terminal fields revealed by immunohistochemistry for the vesicular acetylcholine transporter. I. Central nervous system. *Neuroscience.* 84:331-359.
- Schafer MK, Varoqui H, Defamie N, Weihe E et Erickson JD. 2002. Molecular cloning and functional identification of mouse vesicular glutamate transporter 3 and its expression in subsets of novel excitatory neurons. *J Biol Chem.* 277:50734-50748.

- Shatz CJ. 1990. Impulse activity and the patterning of connections during CNS development. *Neuron*. 5:745-756.
- Shatz CJ. 1996. Emergence of order in visual system development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 93:602-608.
- Shatz CJ et Stryker MP. 1978. Ocular dominance in layer IV of the cat's visual cortex and the effects of monocular deprivation. *J Physiol*. 281:267-283.
- Sobolevsky AI, Rosconi MP et Gouaux E. 2009. X-ray structure, symmetry and mechanism of an AMPA-subtype glutamate receptor. *Nature*. 462:745-756.
- Somogyi J, Baude A, Omori Y, Shimizu H, El MS, Fukaya M, Shigemoto R, Watanabe M et Somogyi P. 2004. GABAergic basket cells expressing cholecystinin contain vesicular glutamate transporter type 3 (VGLUT3) in their synaptic terminals in hippocampus and isocortex of the rat. *Eur J Neurosci*. 19:552-569.
- Sterr A, Muller MM, Elbert T, Rockstroh B, Pantev C et Taub E. 1998. Changed perceptions in Braille readers. *Nature*. 391:134-135.
- Stryker MP et Harris WA. 1986. Binocular impulse blockade prevents the formation of ocular dominance columns in cat visual cortex. *J Neurosci*. 6:2117-2133.
- Sur M et Rubenstein JL. 2005. Patterning and plasticity of the cerebral cortex. *Science*. 310:805-810.
- Sweet RA, Hentleff RA, Zhang W, Sampson AR et Lewis DA. 2009. Reduced dendritic spine density in auditory cortex of subjects with schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*. 34:374-389.
- Tessier-Lavigne M et Goodman CS. 1996. The molecular biology of axon guidance. *Science*. 274:1123-1133.
- Thomson AM. 2000. Facilitation, augmentation and potentiation at central synapses. *Trends Neurosci*. 23:305-312.
- Tieman SB. 1984. Effects of monocular deprivation on geniculocortical synapses in the cat. *J Comp Neurol*. 222:166-176.
- Tognini P, Manno I, Bonaccorsi J, Cenni MC, Sale A et Maffei L. 2012. Environmental enrichment promotes plasticity and visual acuity recovery in adult monocular amblyopic rats. *PLoS One*. 7:e34815.
- Toldi J, Farkas T et Volgyi B. 1994. Neonatal enucleation induces cross-modal changes in the barrel cortex of rat. A behavioural and electrophysiological study. *Neurosci Lett*. 167:1-4.

- Toldi J, Feher O et Wolff JR. 1996. Neuronal plasticity induced by neonatal monocular (and binocular) enucleation. *Prog Neurobiol.* 48:191-218.
- Trevelyan AJ et Thompson ID. 1995. Neonatal monocular enucleation and the geniculocortical system in the golden hamster: shrinkage in dorsal lateral geniculate nucleus and area 17 and the effects on relay cell size and number. *Vis Neurosci.* 12:971-983.
- Trevelyan AJ, Upton AL, Cordery PM et Thompson ID. 2007. An experimentally induced duplication of retinotopic mapping within the hamster primary visual cortex. *Eur J Neurosci.* 26:3277-3290.
- Tucker P, Laemle L, Munson A, Kanekar S, Oliver ER, Brown N, Schlecht H, Vetter M et Glaser T. 2001. The eyeless mouse mutation (ey1) removes an alternative start codon from the Rx/rax homeobox gene. *Genesis.* 31:43-53.
- Turrigiano GG. 1999. Homeostatic plasticity in neuronal networks: the more things change, the more they stay the same. *Trends Neurosci.* 22:221-227.
- Turrigiano GG et Nelson SB. 1998. Thinking globally, acting locally: AMPA receptor turnover and synaptic strength. *Neuron.* 21:933-935.
- Turrigiano GG et Nelson SB. 2000. Hebb and homeostasis in neuronal plasticity. *Curr Opin Neurobiol.* 10:358-364.
- Turrigiano GG et Nelson SB. 2004. Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci.* 5:97-107.
- Valverde F. 1967. Apical dendritic spines of the visual cortex and light deprivation in the mouse. *Exp Brain Res.* 3:337-352.
- Van Boven RW, Hamilton RH, Kauffman T, Keenan JP et Pascual-Leone A. 2000. Tactile spatial resolution in blind braille readers. *Neurology.* 54:2230-2236.
- Veraart C, De Volder AG, Wanet-Defalque MC, Bol A, Michel C et Goffinet AM. 1990. Glucose utilization in human visual cortex is abnormally elevated in blindness of early onset but decreased in blindness of late onset. *Brain Res.* 510:115-121.
- Volkmar FR et Greenough WT. 1972. Rearing complexity affects branching of dendrites in the visual cortex of the rat. *Science.* 176:1445-1447.
- Wagner-Lampl A et Oliver GW. 1994. Folklore of blindness. *J Vis Impair Blind.* 88:267-276.
- Wanet-Defalque MC, Veraart C, De VA, Metz R, Michel C, Dooms G et Goffinet A. 1988. High metabolic activity in the visual cortex of early blind human subjects. *Brain Res.* 446:369-373.

- Wang Q et Burkhalter A. 2007. Area map of mouse visual cortex. *J Comp Neurol.* 502:339-357.
- Wang Q, Sporns O et Burkhalter A. 2012. Network analysis of corticocortical connections reveals ventral and dorsal processing streams in mouse visual cortex. *J Neurosci.* 32:4386-4399.
- Watkins JC et Evans RH. 1981. Excitatory amino acid transmitters. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 21:165-204.
- Watkins JC et Jane DE. 2006. The glutamate story. *Br J Pharmacol.* 147 Suppl 1:S100-S108.
- Weeks R, Horwitz B, Aziz-Sultan A, Tian B, Wessinger CM, Cohen LG, Hallett M et Rauschecker JP. 2000. A positron emission tomographic study of auditory localization in the congenitally blind. *J Neurosci.* 20:2664-2672.
- Wiesel TN et Hubel DH. 1963. EFFECTS OF VISUAL DEPRIVATION ON MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY OF CELLS IN THE CATS LATERAL GENICULATE BODY. *J Neurophysiol.* 26:978-993.
- Wilson NR, Kang J, Hueske EV, Leung T, Varoqui H, Murnick JG, Erickson JD et Liu G. 2005. Presynaptic regulation of quantal size by the vesicular glutamate transporter VGLUT1. *J Neurosci.* 25:6221-6234.
- Winfield DA. 1981. The postnatal development of synapses in the visual cortex of the cat and the effects of eyelid closure. *Brain Res.* 206:166-171.
- Yaka R, Yinon U, Rosner M et Wollberg Z. 2000. Pathological and experimentally induced blindness induces auditory activity in the cat primary visual cortex. *Exp Brain Res.* 131:144-148.
- Yaka R, Yinon U et Wollberg Z. 1999. Auditory activation of cortical visual areas in cats after early visual deprivation. *Eur J Neurosci.* 11:1301-1312.
- Yashiro K, Corlew R et Philpot BD. 2005. Visual deprivation modifies both presynaptic glutamate release and the composition of perisynaptic/extrasynaptic NMDA receptors in adult visual cortex. *J Neurosci.* 25:11684-11692.
- Yashiro K et Philpot BD. 2008. Regulation of NMDA receptor subunit expression and its implications for LTD, LTP, and metaplasticity. *Neuropharmacology.* 55:1081-1094.
- Zhang Q, Pangrsic T, Kreft M, Krzan M, Li N, Sul JY, Halassa M, Van BE, Zorec R et Haydon PG. 2004. Fusion-related release of glutamate from astrocytes. *J Biol Chem.* 279:12724-12733.
- Zheng D et Purves D. 1995. Effects of increased neural activity on brain growth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 92:1802-1806.